Année scolaire
1966

N° 1

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

Jean CROIZET

né à Asnières-sur-Nouère (Charente), le 28 septembre 1931

1° — Thèse : A PROPOS DE QUELQUES APPLICATIONS DE L'ARSENIC 74 AUX PROBLÈMES TOXICOLOGIQUES.

2° — Question proposée par la Faculté : A PROPOS DES POSSIBILITÉS D'APPLICATIONS BIOLOGIQUES ET MÉDICALES DES NEUTRONS DE 14 MeV.

Présentée et soutenue publiquement le mercredi 6 juillet 1966 devant la Commission d'examen :

Examinateurs de la Thèse :

- MM. P. BLANQUET, professeur..... — *Président*
- R. CASTAGNOU, professeur..... — *Juges*
- G. MEYNIEL, professeur, doyen de la Faculté de Clermont-Ferrand — *Juges*
- P. BOURBON, professeur (Faculté mixte de Médecine et Pharmacie de Toulouse) ..... — *Juges*

1966

- E R R A T A -

page 47 ligne 7 lire " dans le flacon par . . . "
page 56 ligne 9 lire " 3) - Réactifs au . . . . "
page 58 ligne 26 lire " à l'aide de paraffine . . "
page 64 ligne 12 lire " qui est un élément . . . "
page 67 ligne 23 lire " conditions. "
page 69 ligne 7 lire " dans la glace fondante . . "
page 70 dernière ligne lire " cristal FLi "
page 71 ligne 11 lire " de la stabilisation, du : . "
page 72 ligne 13 lire " entre 15 mn et 76 jours "
page 91 légende 2° ligne lire " tableau 4 ,
(Radioactivité totale)
page 92 ligne 2 lire " de 30 % . . . "
page 95 ligne 22 lire " 15 mn avec HCl, 30 mn avec . . "
page 101 ligne 10 lire " SH_2... "
page 108 ligne 17 lire " 95 % . "
page 110 ligne 18 lire " LERES T2 DM "
page 123 ligne 11 lire " dérivés volatils . . . "
" ligne 13 lire " Des travaux . . . "
page 127 ligne 21 lire " phénomène d'adsorption "
page 131 ligne 21 lire " ne paraissait pas s'agir "

Année scolaire
1966

N° 1

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

Jean CROIZET

né à Asnières-sur-Nouère (Charente), le 28 septembre 1931

1° — **Thèse :** A PROPOS DE QUELQUES APPLICATIONS DE L'ARSENIC 74 AUX PROBLÈMES TOXICOLOGIQUES.

2° — **Question proposée par la Faculté :** A PROPOS DES POSSIBILITÉS D'APPLICATIONS BIOLOGIQUES ET MÉDICALES DES NEUTRONS DE 14 MeV.

Présentée et soutenue publiquement le mercredi 6 juillet 1966 devant la Commission d'examen :

Examinateurs de la Thèse	MM. P. BLANQUET, professeur.....	*Président*
	R. CASTAGNOU, professeur.....	*Juges*
	G. MEYNIEL, professeur, doyen de la Faculté de Clermont-Ferrand	
	P. BOURBON, professeur (Faculté mixte de Médecine et Pharmacie de Toulouse)	

1966

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

AVANT PROPOS

C'est en 1951 que Monsieur le Professeur BLANQUET nous a accepté dans son Laboratoire, nous commencions alors nos études de Pharmacie. Sous sa direction et sous celle de Monsieur MOUNIER, qui nous a fait bénéficier de son expérience dans le domaine de la physico-chimie, et auquel nous demandons de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude, nous avons pu nous initier aux techniques radioactives, biochimiques et à leurs applications au métabolisme thyroïdien.

Mais, voici quatre ans, Monsieur le Professeur BOURBON, ayant parlé des difficultés qu'il rencontrait lors du dosage de petites quantités d'arsenic par la méthode de CRIBIER, demandait à Monsieur le Professeur BLANQUET s'il était possible de faire l'étude de cette réaction au moyend'un radioisotope de l'arsenic. Le Professeur BLANQUET nous proposait alors ce travail comme sujet de thèse. Que Monsieur le Professeur BOURBON veuille bien trouver ici l'assurance de notre bien vive reconnaissance et de notre profond respect.

Nous sommes très sensible à l'honneur que nous fait Monsieur le Doyen MEYNIEL en voulant bien siéger dans notre Jury de thèse. Nous n'oublions pas que c'est sous sa direction, alors que Monsieur le Professeur BLANQUET séjournait à l'Université de BERKELEY, que nous nous sommes intéressé à la chromatographie sur papier, sur colonne, à l'électrophorèse. . . Que Monsieur le Doyen

MEYNIEL veuille bien trouver ici le témoignage de notre très respectueux attachement pour la bienveillance qu'il nous a toujours témoigné durant les années où nous avons eu le privilège de travailler avec lui.

Nous désirons, également, exprimer notre profonde reconnaissance à tous nos Maîtres de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de BORDEAUX, et, particulièrement à Monsieur le Professeur CASTAGNOU, pour l'honneur qu'il nous fait en siègeant dans notre Jury de thèse.

Nous ne voulons pas oublier, dans nos remerciements tous les Membres du Laboratoire de Physique Nucléaire Appliquée et Radiobiologie, qui nous ont aidé à la réalisation de cette thèse, ou qui ont montré un vif intérêt à son élaboration.

En terminant, c'est à Monsieur le Professeur BLANQUET que nous nous adresserons, car nous sommes heureux de pouvoir le remercier de tout ce qu'il a fait pour nous depuis bientôt quinze ans,pour les grandes facilités de travail qu'il nous a accordées, et surtout pour les conseils éclairés qu'il n'a cessé de nous prodiguer. Qu'il nous soit donc permis, après tant d'années passées dans son laboratoire, de lui demander que ce modeste travail lui doit dédié.

Nous espérons, toutefois, qu'il nous sera toujours permis de lui manifester l'expression de notre fidèle attachement et de notre profonde admiration.

A PROPOS DE QUELQUES APPLICATIONS DE L'ARSENIC 74

AUX PROBLEMES TOXICOLOGIQUES

-. - - -

Les propriétés toxiques de l'arsenic sont connues depuis la plus haute antiquité, Grecs et Latins ont décrit de nombreux accidents cutanés ou généraux dus à l'orpiment, trisulfure d'arsenic utilisé en peinture et comme pâte épilatoire. Ce poison, c'est encore l'arsenicon dans lequel on retrouve éthymologiquement deux racines grecques : Arsen (mâle), Nicao (vaincre). L'arsenic est donc la substance capable de terrasser l'homme (15 - 213 - 241 - 285).

Très répandu dans la nature, mais rarement à l'état d'arsenic, (Sainte Marie aux Mines), ce métal se trouve sous forme d'acide arsénieux (arsénolite ou arsénite) de sulfure d'arsenic (orpiment ou réalgar) de divers arséniates, d'arsénites. Celui de cobalt (smaltine) est employé pour fabriquer l'oxyde de cobalt qui sert à colorer les émaux et les verres en bleu, ou pour préparer le verre bleu désigné sous le nom de "smalt".

Toutes les combinaisons arsenicales sont plus ou moins toxiques, la dose toxique, cependant, est très variable suivant le mode d'administration : les arsénicophages de STYRIE absorbent

jusqu'à 0,20 - 0,30 g. d'acide arsénieux en une prise. Il n'en reste pas moins que, à très faible concentration, l'arsenic est un élément indispensable à la vie parce que régulateur irremplaçable de certains métabolismes. Gabriel BERTRAND a montré, en effet, qu'il était l'un des 28 éléments nécessaires à toute matière vivante.

Mais si l'arsenic a servi et sert encore à l'empoisonnement criminel, il arrive qu'il cause fréquemment des empoisonnements accidentels, des intoxications professionnelles ou thérapeutiques.

Facile à manier, difficile à mettre en cause l'arsenic fut jusqu'au milieu du siècle dernier l'arme favorite des empoisonneurs. 90 % des cas d'empoisonnements criminels étaient alors le fait des arsenicaux que le langage populaire appelait la "poudre de succession". C'était l'arme idéale, aussi bien autour des trônes que dans les plus modestes demeures.

Avant la découverte de MARSH, l'empoisonneur, ou le plus souvent l'empoisonneuse, manipulait l'arsenic déjà avec science : il y avait en sa faveur l'absence de saveur, l'ignorance des médecins, la similitude de symptômes avec les maladies classiques de l'époque : (choléra, thyphoïde, nombreuses maladies cutanées, intoxications alimentaires....). Le crime passait inaperçu, aucun examen post-mortem ne pouvait le déceler.

Déjà en 1384, CHARLES le MAUVAIS conseillait à son Ménestrel WOUDRETTON de l'utiliser pour empoisonner le Roi CHARLES VI et par la même occasion les Ducs de VALOIS, de BOURGOGNE et de BOURBON.

"Il est une chose qui se appelle Arsenic sublimat. se un homme en mangeoit aussi gros qu'un poiz, jamais ne vivroit - Tu en trouverois à Pampelune, à Bordeaux, à Bayonne es ostelz des apoticaires".

"Prends de cela et fais en de la poudre, et, quand tu seras dans la maison du Roi, du Comte de Valois son frère, des Ducs de Berry, Bourgoigne et Bourbon, tray-toi près de la cuisine, du dressoüer, de la bouteillerie ou de quelques autres lieux où tu verras mieulx ton point ; et, de cette poudre met ès potages, viandes, ou vins, au cas où tu pourras faire à ta seureté, autrement ne le fay point".

A partir du 15° siècle, les empoisonnements par l'arsenic devinrent plus fréquents, surtout en Italie où l'assassinat à l'aide de l'anhydride arsénieux était même une profession non seulement tolérée, mais rémunérée par les hommes d'Etat, qui faisaient appel aux empoisonneurs pour se débarrasser d'adversaires génants. On sait que ce fut le poison favori des BORGIA. Durant la dernière moitié du 17° siècle, la SPARA et la TOFFANA étaient renommées pour leur habilité à la préparation des liqueurs arsenicales, qu'elles vendaient comme eau de toilette dans de petites fioles en verre portant l'image d'un saint et sous des étiquettes diverses. Il parait démontré que ces liqueurs mystérieuses étaient surtout constituées par une solution d'acide arsénieux. C'est avec de telles préparations que furent empoisonnées, d'après ce que l'on rapporte, plus de 600 personnes, parmi lesquelles les Papes PIE III et CLEMENT V.

En France, aux 17° et 18° siècles, l'anhydride arsénieux parait avoir été fréquemment employé pour de nombreux empoisonnements, et notamment par la Marquise de BRINVILLIERS et le Chevalier de SAINTE CROIX. Celui-ci aurait appris son art redoutable d'un alchimiste Italien EXILI, qu'il rencontra en prison à la Bastille. Mais d'après d'autres auteurs, c'est le médecin Suisse GLASSER, apothicaire de LOUIS XIV qui aurait fait connaître à SAINTE CROIX les propriétés toxiques de l'arsenic.

La fameuse poudre de succession employée par La VOISIN était selon toute vraisemblance également arsenicale.

Dans la période postérieure à MARSH, le nombre des intoxications criminelles décelées crut d'abord considérablement. De 1835 à 1875, il se produisit en France, d'après CHAPUIS, 1850 empoisonnements dont 804 par les composés de l'arsenic. Ensuite, ce nombre diminua peu à peu. L'empoisonneur en puissance sachant que son crime pouvait être démontré post-mortem.

Parmi les causes célèbres du siècle dernier, citons l'affaire BOURSIER (1823), le procès de Mme LAFARGE (1840), l'affaire LACOSTE (1843), le procès Hélène JEGADO (1851) et l'affaire DANVAL (1879).

En 1880, un garçon boulanger de Saint-Denis qui voulait se venger de son patron mélangea de l'anhydride arsénieux à la farine. Il y eut 270 victimes. Un empoisonnement semblable avait eu lieu en 1867 en Allemagne à WURZBOURG : 373 intoxications. Parmi les cas plus récents, citons celui qui a défrayé la chronique en 1934 : en Hongrie, un paysan avait extrait l'anhydride arsénieux d'un produit destiné à détruire les mouches et s'était servi de ce toxique pour empoisonner un certain nombre de parents ou de voisins génants.

De nos jours, bien que la fréquence des meurtres par empoisonnement ait considérablement diminué, l'anhydride arsénieux et certains de ses dérivés sont encore assez souvent utilisés par les criminels (nombre de procès célèbres au XX° siècle). Beaucoup de crimes à l'arsenic restent inconnus, impunis et même... impunissables.

Deux catégories d'individus s'illustrent encore dans cette technique :

- "Les gens frustres, tarés, débiles mentaux, habitant généralement la campagne. "Ils utilisent naïvement pour exécuter leur forfait la "poudre à doryphore", la mort au rat qui est incorporée à dose

massive au repas d'un vieux père, d'un conjoint, d'un créancier, quand elle n'est pas déversée par kilo dans le puits du voisin ou introduite dans un sac de farine auquel cas, la vengeance dépasse dramatiquement son but".

-"Les autres n'ignorent nullement les méthodes toxicologiques modernes, mais patients et déterminés ils se documentent ; instruits en pathologie, exerçant souvent une profession chimique, pharmaceutique ou médicale, ils connaissent les possibilités de l'arsenic et, administrent à leur victime des doses convenables et répétées ; ils déterminent ainsi l'apparition d'un syndrome qui simule une affection d'allure classique s'aggravant lentement et progressivement, paraissant relever d'une étiologie infectieuse. Les praticiens s'y trompent fréquemment quand ils n'ont pas présent à l'esprit la possibilité d'une étiologie toxique".

Les empoisonnements suicides, par contre, sont rares. L'intoxication est trop longue et trop douloureuse. Rappelons toutefois l'affaire du Duc de PRASLIN et le roman de Gustave FLAUBERT : Mme BOVARY.

Les empoisonnements accidentels sont fréquents et dus à des causes très diverses, surtout à l'ingestion d'aliments souillés par erreur de dérivés arsenicaux. (vins platrés par erreur à l'anhydride arsénieux : affaires d'Hyères, de St Martin de Crau, de Kaisersthul) - (bières de Manchester)...

Les intoxications professionnelles jadis très répandus sont aujourd'hui peu fréquentes, en raison des précautions prises.

C'est cependant l'extraction des minerais qui donnent lieu au plus grand nombre d'accidents professionnels. Les mines de SCHNEEBERG ont été à ce point de vue célèbres. L'utilisation des produits

arsenicaux chez les laqueurs, peintres et chimistes, chez les mégissiers (traitement arsenical des peaux), provoque également un certain nombre d'intoxications. Enfin, les industries où l'arsenic intervient sous forme d'impuretés sont en réalité les plus dangereuses.

Les intoxications pharmaceutiques sont assez rares, erreur de posologie du médecin, négligence du pharmacien (poudre Baumol), méprise du malade. Les liqueurs de FOWLER, BOUDIN, PEARSON en sont généralement la cause. C'est la raison pour laquelle les dérivés minéraux ont été remplacés par des arsenicaux organiques (arrhénal, cacodylate...).

La fréquence des intoxications arsenicales, quelle qu'en soit l'origine explique les efforts faits par les chimistes et toxicologues, pour mettre au point des techniques de détection et de dosage de l'arsenic de plus en plus sûres, fidèles et précises.

Nous rapportons les principales ci-dessous.

- PREMIERE PARTIE -

- - -

- METHODES DE DOSAGE DE L'ARSENIC -

- - - - -

On peut classer les méthodes utilisées pour déterminer qualitativement et quantitativement l'arsenic en deux grands groupes, suivant qu'elles sont basées sur l'utilisation de réactions chimiques ou font appel à des phénomènes physiques.

Nous n'avons nullement la prétention de rapporter ici en détail toutes les techniques proposées. Nous ne citerons que les principales.

I - METHODES CHIMIQUES

A : Méthodes par précipitation, (méthode de CORDEBARD).

B : Méthodes d'isolement par voie sèche suivie d'une volatilisation de l'arsenic.

C : Méthodes diverses.

D : Méthodes de séparation de l'arsenic par production d'hydrogène arsénié ($As\ H_3$).

1) - $As\ H_3$ détecté par dissociation thermique (méthode de MARSH).

2) - $As\ H_3$ détecté par action sur papier réactif au :

α) - Nitrate d'argent.

β) - Citrate d'argent.

γ) - Chlorure ou bromure mercurique.

a) - Méthode de CRIBIER.

b) - Méthode de GRIFFON & THURET.

3) - As H_3 est dosé par action sur l'iode (Méthode de HEFTI).

II - METHODES PHYSIQUES.

1) Polarographie (Méthode de VIGNOLI-CRISTAU).

2) Radioactivation (Méthode de GRIFFON).

3) Fluorescence aux rayons X.

CHAPITRE 1

METHODES CHIMIQUES

A - METHODES PAR PRECIPITATION

I - Dépôt d'arséniure de Cuivre. (Méthode de CORDEBARD).

C'est en 1841 que REINSCH (248 à 254) remarqua que le cuivre métallique se recouvrait d'un enduit gris-noirâtre dans les solutions arsénieuses fortement acidifiées par l'acide chlorhydrique.

Mais, en analyse qualitative, l'obtention d'un enduit gris-noirâtre, fortement fixé sur le cuivre en solution chlorhydrique, chaude ou froide, n'est pas caractéristique de l'arsenic. Le mercure, le sélénium, et surtout l'antimoine réagissent de la même manière. La réaction de REINSCH apparait ainsi être un essai préliminaire utile, permettant d'affirmer l'absence d'arsenic, quand la formation d'un enduit sur le cuivre reste négative.

Dans le cas d'un enduit, la caractérisation systématique de l'arsenic fixé peut seule autoriser un chimiste à affirmer sa présence. Les contemporains de REINSCH opérant par voie sèche cherchèrent à le sublimer à l'air et à l'identifier sous forme de cristaux brillants d'acide arsénieux.

En 1893 CLARK (56) proposa de l'identifier par voie humide (contact prolongé avec une solution de potasse additionnée d'eau oxygénée). L'arséniate alcalin était traité par HCl en excès, le chlorure

d'arsenic volatil distillé et caractérisé sous forme de sulfure.

CLARK confirma les sensibilités données par REINSCH (1 mg pour 300 ml) et affirma en outre, en accord avec LETHEBY (203), puis TAYLOR et MACLAGAN (277 - 278) que le cuivre pouvait fixer toutes traces d'arsenic dans les mixtures organiques (57) :

"Pour déceler la présence d'arsenic, la réaction de REINSCH est peut être moins sensible que celle de MARSH, mais par contre, elle présente l'avantage d'être plus rapide et applicable, même en présence de quantités notables de matières organiques".

C'est alors qu'elle bénéficia de la faveur des chimistes anglais et fut, dès 1901, proposée comme méthode officielle de recherche de l'arsenic dans la bière.

Le cuivre se comporte comme un remarquable "accumulateur" d'arsenic en milieu chlorhydrique suivant une technique particulièrement simple.

Cette réaction retint l'attention de CORDEBARD (60 - 61 - 62) qui, après de nombreuses recherches, put établir que l'enduit d'arséniure cuivreux était soluble dans l'eau oxygénée ammoniacale. Dans certaines conditions l'arséniate d'ammonium formé se prétait au dosage colorimétrique par la méthode céruléo-molybdique de DENIGES.

Un collaborateur de CORDEBARD, LOUIS (212) présentait en 1946 une thèse sur ce sujet. Etudiant en détail la méthode, il put préciser la nature de l'enduit, les conditions opératoires de son obtention, la sensibilité et la spécificité de la réaction. On trouvera ci-dessous quelques détails concernant cette technique.

1 - Nature de l'enduit

L'enduit fut considéré comme de l'arsenic pur jusqu'à ce que FRESENIUS y reconnut, en 1856, la présence de Cuivre (111).

Quelques années plus tard, LIPPERT (209) lui attribua la formule d'un arséniure cuivrique $As_2 Cu_5$.

CORDEBARD, récemment, (60 - 61) établit que cet enduit correspondait en réalité à l'arséniure cuivreux, de formule $As Cu_3$.

2 - Conditions opératoires de formation de l'enduit.

α)-Acidité et température.

REINSCH n'est pas catégorique au sujet de la concentration chlorhydrique (249) de même que GALTIER (114) et FRESENIUS (111). LIPPERT (209) chauffe au voisinage de 100° et TAYLOR recommande (277 - 278) d'ajouter 1/6° à 1/8° du poids de Cu en HCl et de porter à ébullition. COWLEY & CATTFORD (63) ajoutent au liquide à étudier le 1/5° de son volume d'acide chlorhydrique et estiment qu'une heure d'ébullition suffit pour fixer la totalité de l'arsenic.

DRAGGENDORF (90) constate que la méthode de REINSCH (249) est peu valable avec des solutions trop acides, CLARK (56) ne mentionne que l'acide chlorhydrique dilué à ébullition. ALLEN (2) limite cette dernière à 30 minutes.

Enfin, CRIBIER signale (64) la grande facilité de la réaction puisqu'il suffit de placer un morceau de tournure de cuivre dans la solution chlorhydrique d'essai puis de porter à ébullition pendant quelques minutes, pour avoir immédiatement une indication de la présence d'arsenic.

β)-Nature et forme du cuivre

Le cuivre pur n'est que très lentement attaqué par HCl concentré ou dilué, à froid comme à chaud. REINSCH (249), TAYLOR (277 278) et CRIBIER (64) recommandent pour le rendre plus apte à fixer l'arsenic, de le décaper à l'acide nitrique, puis de le laver à l'eau.

HAGER (141) remplace la lame de cuivre par un morceau de laiton qui donne un enduit sombre, la réaction lui semblant aussi sensible qu'avec le cuivre.

Mais la totalité des alliages cuivrés contiennent de l'arsenic et c'est pour cette raison que les chimistes rigoureux comme TAYLOR (277 - 278) et GADAMER (112) recommandent d'employer du cuivre absolument pur (électrolytique).

La forme du cuivre utilisé a aussi son importance sur la vitesse de fixation de l'arsenic.

TAYLOR (277 - 278) le premier a fixé l'arsenic sur une toile de cuivre à fils très serrés, de 1/2 pouce carré, (surface réelle de contact très grande).

LIPPERT (209) utilise du fil de cuivre. COWLEY & CATTFORD (63) préfèrent également employer du fil de cuivre très fin enroulé en spirale.

CLARK (56) emploie une lame de cuivre de 1/4 de pouce carré et 3 épuisements successifs. GEMMEL (124) opère avec des étalons obtenus sur des lames de cuivre de surface bien définies.

Dès sa publication, la méthode de REINSCH fut considérée comme plus rapide et plus sensible que la méthode de MARSH (1836) (215 - 216). "Elle permet, en effet, d'obtenir un enduit visible et caractérisable avec 1 mg d'As pour 300 ml de solution, soit environ 3 µg / ml".

γ)-Nature de l'arsenic en solution

Les essais de REINSCH (249) portaient exclusivement sur des solutions d'anhydride arsénieux ou de chlorure d'arsenic dans de l'acide chlorhydrique. Dans ce cas, la fixation de l'arsenic sur le cuivre est extrêmement rapide, surtout à chaud, ce qui donne à la mé-

thode un caractère de sensibilité que certains chimistes se sont étonnés de ne pas toujours retrouver.

Déjà FRESENIUS (111) avait signalé en 1856 la possibilité de déplacer l'arsenic d'un arséniate. "Le cuivre se recouvre d'un dépôt grisâtre absolument comme avec de l'acide arsénieux si l'on ajoute à la liqueur deux volumes d'acide chlorhydrique concentré".

Plus tard, en 1909, GADAMER (112) refutait l'opinion de WERTHER (305) qui affirmait qu'une solution à 0,2 % d'acide arsénique ne donnait pas d'enduit ou seulement après un temps très long. Dans le but de faciliter la fixation, ALLEN (3) ajoutait du chlorure cuivreux.

La caractérisation de l'arsenic, selon la méthode de REINSCH (249) n'a retenu l'attention que de GAEBEL (113) en 1911 et plus tard celle de CORDEBARD et LOUIS (60 - 61 - 62 - 212).

Avec le mode opératoire suivant, LOUIS (212) obtient de bons résultats:

"Dans une petite boite métallique cylindrique, de 4 à 5 cm de haut, et de 5 cm de diamètre environ, reposant sur une toile métallique, on place des tubes a essai en pyrex (15 x 1,5 cm) contenant 4 ml d'un mélange constitué par 1 ml de HCl pur et 3 ml de solution arsénieuse. On ajoute une lame de cuivre de 4 cm^2."

L'ébullition doit être régulière et le niveau de liquide dans le tube constant.

La transformation de l'arséniure en arséniate s'effectue ensuite facilement en préparant dans une capsule le mélange oxydant :

(X gouttes d'eau distillée.
(III gouttes d'ammoniaque pure (20 % de NH_3)
(III gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes.

On y projette alors le cuivre enduit d'arséniure. Dès immersion, la réaction est très vive : dégagement tumultueux de bulles

d'oxygène et disparition de l'enduit gris-noirâtre. On retire la lame de cuivre et on la lave.

Pour éliminer les réactifs, susceptibles d'intervenir dans la réaction céruléo-molybdique, LOUIS conseille d'évaporer le liquide à siccité.

Après refroidissement complet, on verse sur le résidu :

(5 ml d'eau distillée.

(III gouttes de réactif sulfo-molybdeux.

(V gouttes de réactif sulfo-molybdique.

Le dépôt brun-noirâtre se dissout rapidement. On chauffe alors le mélange jusqu'à ébullition. Le liquide bleu obtenu après refroidissement est amené à 5 ml et comparé à une gamme étalon obtenue dans des conditions identiques.

Cette technique qui consiste donc à transformer l'arsenic en complexe arséno-molybdique, puis à réduire celui-ci en bleu de molybdène a été recommandéepar le Comité Anglais des méthodes analytiques en 1960.

II - PRECIPITATION d'IODURE d'ARSENIC : Méthode de BRESSANIN (39)

Cette méthode, dont le principe revient selon BARTHE (11) à SEYBEL & WIKANDER, fut codifiée par BRESSANIN. Elle repose sur la formation d'iodure d'arsenic insoluble, coloré en jaune.

L'I_3 As est insoluble dans HCl concentré, ce qui le différencie des précipités de couleur voisine qui se forment dans les mêmes conditions avec les sels d'antimoine, d'étain ou de plomb.

Avec de l'acide sulfurique de concentration supérieure à 50° B de l'iode est libéré. Il convient alors, pour mettre en évidence le précipité jaune d'iodure d'arsenic, de décolorer le liquide rougeâtre par addition de quelques gouttes d'une solution de bisulfite de

soude.

III - REACTION de DENIGES au NO_3 Ag.

DENIGES (78) en 1915 indiqua pour l'identification de l'arsenic normal une microréaction qualitative au NO_3 Ag dont la sensibilité est de l'ordre de 0,001 mg d'arsenic.

Le réactif est une solution de NO_3 Ag ammoniacal : "Sur le résidu sec d'une ou plusieurs gouttes de la solution arsenicale évaporées lentement sur une lame de verre porte objet, on dépose une trace de réactif argentique. Après 3 minutes de contact, on examine directement au microscope (grossissement de 20 à 50, puis 100 à 200). Lorsque le résidu est arsenical, on observe des cristaux héxaédriques ou rhomboèdriques de couleur grenat".

Cette réaction est très sensible, mais nécessite que la totalité de l'arsenic soit concentrée en 1 ou 2 gouttes de solution aqueuse. Elle est donc inapplicable en toxicologie courante.

IV - DOSAGE PONDERAL de CARNOT.

CARNOT (43), en 1895 proposa le dosage pondéral suivant : le précipité de sulfure d'arsenic est transformé en acide arsénique, qui est dosé pondéralement sous forme d'arséniate de bismuth, (sensibilité de l'ordre de 0,05 mg d'arsenic).

V - PRECIPITATION d'ARSENIC METALLOÏDIQUE par REDUCTION

1) - Méthode de BETTENDORF au chlorure stanneux (25)

Si le principe de la méthode revient à KESSLER (172), l'application pratique est l'oeuvre de BETTENDORF (1869).

En milieu chlorhydrique, l'acide arsénieux réagit avec le chlorure stanneux, il se produit un précipité brun plus ou moins volumineux d'arsenic métalloïque, permettant de faire un microdosage par comparaison avec une gamme de "troubles" préparés dans des conditions identiques.

Cette réaction, très sensible, permettrait de déceler 5 µg d'arsenic. De nombreuses variantes pour la préparation du chlorure stanneux ont été proposées. (26 - 39).

2) - Méthode au réactif hypophosphoreux.

De multiples recherches en FRANCE et à l'Etranger ont été consacrées à l'étude de l'action réductrice du réactif hypophosphoreux sur les composés minéraux de l'arsenic.

Dès 1816, DULONG (92) signalait les propriétés réductrices de l'acide hypophosphoreux. Mais ce n'est qu'en 1873 qu'ENGEL (95) s'apercevait que cet acide en milieu chlorhydrique, réduisait les composés arsénicaux minéraux, l'iodure de potassium favorisant la réaction (THIELE) (102). ENGEL & BERNARD (96 - 97) décrivaient en 1896 une technique de dosage de l'arsenic métalloïque résultant, par oxydation à l'aide d'une solution titrée d'iode. En 1902, BOUGAULT (33) proposait un réactif de composition bien déterminée. Trois ans plus tard, DENIGES (76) signalait la possibilité d'un dosage diaphanométrique. En 1907, BOUGAULT (34 à 37) dosait, à l'aide de son réactif, les composés organiques de l'arsenic.

En 1921 CRIBIER (64) établissait l'équation de la réaction. Et parallèlement, BRANDT (38), puis EVANS (99) étudiaient un dosage iodométrique de l'arsenic.

En 1936, PLUCHON (242) mettait au point les modalités d'un semi-microdosage. THURET effectuait en 1937 (289 - 290) des dosages

photométriques. ANDERSON envisageait l'oxydation en As_5 et le dosage par les bromates (4). LANGLOIS & MORIN (187) après une étude précise du mécanisme de la réaction concluaient, contrairement aux indications du Codex de l'époque, que le réactif devait être utilisé dilué.

KOLKOFF & AMDUR dosent l'arsenic métalloïdique par du sulfate cérique (184). LESPAGNOL revenait au dosage iodométrique (200 - 201 - 202). Enfin, en 1951, la Pharmacopée Internationale (239) proposait deux méthodes, dont l'une utilise le réactif hypophosphoreux dilué à l'eau et renforcé par une trace de chlorure stanneux. (cf : également les excellentes revues générales de PLUCHON (242), RIVEMALE (256) & CRISTAU (68).

a) - Méthode de BOUGAULT.

La solution arsenicale à étudier, 10 ml de réactif de BOUGAULT et quelques gouttes d'une solution d'iode sont portés au bain-marie bouillant pendant une heure environ dans un flacon bouché afin d'éviter la volatilisation d'arsenic sous forme de chlorure (CRIBIER) (64).

On laisse refroidir et on examine le tube sur fond blanc.

La coloration brune permet de déceler jusqu'à 0,01 mg d'arsenic. Par contre, l'examen du dépot au bout de quelques jours permet de pousser plus loin l'appréciation (0,005 mg). On compare la coloration de l'essai à celle d'une gamme étalon préparée dans les mêmes conditions.

b) - Méthode de THURET (289).

En 1937, THURET faisait remarquer que le trouble obtenu par réduction des composés oxygénés de l'arsenic, au moyen du réactif de BOUGAULT, manque de stabilité et flocule très rapidement avec le temps.

Cependant, la néphélomètrie peut être utilisée. On compare deux solutions (essai et témoin) de même âge et parvenues au même stade de floculation.

L'emploi d'un comparateur photo-électrique est encore plus sensible, mais nécessite pour chaque dosage l'établissement préalable d'une courbe d'étalonnage. Il convient alors de stabiliser le louche provenant de la solution inconnue pendant le temps nécessaire à l'établissement de la courbe d'étalonnage.

Cette stabilisation est obtenue par addition après réduction et refroidissement de la solution arsenicale de X gouttes d'une solution de gomme arabique à 20 %.

Dans ces conditions, on peut apprécier un trouble provenant d'une solution contenant 0,0001 mg d'arsenic par ml avec une erreur de $\pm$ 2 %.

c) - Méthode de PLUCHON (242).

L'arsenic est isolé par précipitation au moyen du réactif de BOUGAULT. L'auteur insiste sur les conditions dans lesquelles doit s'effectuer cet isolement:volume de la solution arsenicale, volume du réactif de BOUGAULT, capacité et forme du récipient, température ambiante, hauteur d'eau du bain-marie, adjuvants possibles, réfrigération, filtration et lavage du précipité. On retrouvera des détails de la technique à suivre dans la thèse de l'auteur.

PLUCHON envisage ensuite 3 moyens de doser l'arsenic ainsi isolé :

- pesée directe,
- pesée de l'arséniate ammoniaco-magnésien,
- méthode volumétrique.

PLUCHON dose l'arsenic par la méthode de FLEURY ainsi modifiée : le précipité d'arsenic métalloïdique est dissout dans une solu-

tion d'iode en excès. On passe en milieu chlorhydrique et on ajoute de l'iodure de potassium. On porte au bain-marie 15 minutes. Dans ces conditions, les arséniates passent à l'état d'arsénites en déplaçant l'iode de l'iodure et la solution jaunit. On décolore par une solution thiosulfatique, on alcalinise par le bicarbonate de sodium et on dose les arsénites formés par une solution d'iode N/250.

Cette méthode permettrait de doser avec précision 0,5 mg d'arsenic. Un tel procédé convenait dans bien des cas, pour déceler un empoisonnement arsenical important, mais il manquait cependant de sensibilité.

La méthode de BOUGAULT, et celles qui en dérivent, ont fait l'objet de nombreuses publications. On leur assignait un caractère définitif, jusqu'à la publication par deux Pharmacopées différentes de techniques, en apparence similaires, mais qui ne conduisaient pas aux mêmes résultats. En effet, la Pharmacopée Internationale (239 - 240) indiquant une technique différente de celle du Codex (58), il parut alors intéressant à CRISTAU (68) d'effectuer une étude critique.

Cet auteur étudia dans quelle mesure les variations de condition d'emploi des réactifs hypophosphoreux pouvaient avoir une influence sur la précipitation de l'arsenic, pour les différentes méthodes de dosage :

- méthodes volumétriques (oxydation de l'arsenic métalloïque) (4 - 5-184 - 200 à 202 - 242).
- méthodes physiques (examen optique des troubles colloïdaux) (76 - 143 - 289 - 290).

CRISTAU a alors été amené à mettre au point une méthode colorimétrique utilisant le réactif phospho-molybdotungstique du Codex, permettant d'obtenir des mesures indépendantes de l'état phy-

sique de l'arsenic insolubilisé tout en conservant une grande sensibilité (59 - 67 - 108 - 235 - 301 - 302).

La coloration obtenue suit la loi de BEER-LAMBERT (spectrophotomètres 765 mμ, et photocolorimètres à écran rouge).

La stabilité de la coloration est de plusieurs heures, et la sensibilité est celle du réactif hypophosphoreux lui-même (environ 10 à 20 μg/10 ml de liquide).

Pour des doses d'arsenic comprises entre 25 et 100 μg, CRISTAU conclut que la technique générale du Codex est d'une sensibilité médiocre, alors que celle de la Pharmacopée Internationale donne entière satisfaction.

Lorsque la dose d'arsenic s'accroit (125 à 500 μg), le rendement en arsenic précipité tend à augmenter.

Envisageant l'influence des sels de fer sur le dosage de l'arsenic, de nombreux expérimentateurs ayant montré que la réaction n'était plus quantitative et qu'elle pouvait même ne pas se produire (38 - 64 - 76 - 99 - 242). CRISTAU établit que le pouvoir réducteur de l'acide hypophosphoreux se trouve considérablement affaibli en présence de sels de fer. Pour rendre totale la précipitation de l'arsenic, il faut rechercher un adjuvant énergique réducteur, susceptible de bloquer de façon irréversible les sels de fer à l'état II.

En ajoutant une petite quantité de chlorure stanneux, CRISTAU précipite quantitativement l'arsenic par le réactif hypophosphoreux en présence d'un excès de fer (25 μg d'As peuvent ainsi être correctement dosés en présence de 100 fois leur poids de fer III).

En milieu dilué, la réduction des composés arsenicaux minéraux, par le réactif hypophosphoreux se traduit au début par une coloration jaune orangé qui ne tarde pas à brunir en même temps qu'un

louche apparait. L'intensité de ce trouble s'accroissant avec la concentration en arsenic, (le phénomène est susceptible de détermination optique). Une des principales difficultés pratiques de ces méthodes reste dans l'instabilité de ces louches (76 - 143 - 289 - 290).

Il a donc semblé utile à CRISTAU (68) de reprendre ces problèmes en effectuant tout d'abord une étude détaillée des louches d'arsenic en spectrophotométrie d'absorption et de rechercher ensuite un agent de dispersion et de stabilisation compatible avec le réactif hypophosphoreux à chaud et ne se prenant pas en masse comme le gel de silice.

Cet auteur, en conclusion, propose deux méthodes de dosage :

- la première, en vue de la détermination de doses comprises entre 20 et 100 µg, fait appel au réactif hypophosphoreux, sensibilisé au chlorure stanneux et additionné d'une petite quantité de polyvidone, agent de dispersion et de stabilisation des louches d'arsenic.

- la seconde applicable à des doses comprises entre 2,5 et 20 µg, met en oeuvre le seul réactif hypophosphoreux sensibilisé au chlorure stanneux.

L'acide hypophosphoreux ne peut à lui seul réduire les composés minéraux de l'arsenic à l'état d'arsenic métalloïque : la présence d'acide chlorhydrique est indispensable (95). Aussi, CRIBIER (64) a-t-il émis une hypothèse selon laquelle le chlorure d'arsenic formé, subirait l'action de l'acide hypophosphoreux.

Il est d'ailleurs bien établi depuis les expériences de THIELE (279 - 280) & BOUGAULT (33) que la présence d'iodures catalyse considérablement la vitesse de la réaction (étude comparative de la réaction opérée sans bromure, avec iodure, ou avec bromure). CRISTAU apporte une preuve de plus à la théorie de CRIBIER (64), selon laquelle l'arsenic est réduit par le réactif hypophosphoreux à partir de l'halogénure.

VI - FORMATION de SULFURE COLLOIDAL

GAUDY & ANTOLA en 1938 (118) ont publié une semi-micro-méthode de dosage colorimétrique de l'arsenic basée sur la formation de sulfure à l'état colloïdal par action de l'hydrogène sulfuré sur des solutions d'arsenic trivalent en présence de gélatine.

CRISTAU (68) a réalisé une étude spectrophotométrique des sols de sulfure d'arsenic obtenus en présence de polyvidone agissant comme agent de dispersion.

La coloration du sol de sulfure d'arsenic suit, d'après cet auteur, parfaitement la loi de BEER-LAMBERT pour des concentrations en arsenic allant de 25 à 500 µg pour 10 ml de solution.

B - METHODE D'ISOLEMENT PAR VOIE SECHE ET VOLATILISATION DE L'ARSENIC.

I - Procédé de FRESENIUS & BABO.

Voici ce que rapporte DRAGENDORFF (89) sur ce procédé : le sulfure d'arsenic dérivant de la destruction organique est mêlé après dessication complète avec un mélange bien sec de carbonate de sodium et de cyanure de potassium. Le mélange final est introduit dans un tube à analyse en verre dont une extrémité est effilée. Par la partie non effilée de ce tube, on fait arriver un courant de gaz carbonique bien sec. Après avoir chassé toute l'humidité on donne un "coup de feu" et l'arsenic libéré à ce moment vient se condenser à l'épaulement de la partie effilée du tube à analyse.

L'antimoine et l'étain ne se volatisent pas et ne perturbent pas les réactions de l'arsenic. Mais la technique n'est cependant pas sans inconvénients graves (GAUTIER) (120) :

1°) Etant donné le pouvoir très hygroscopique du cyanure de potassium, il faut pour dessécher le mélange, chauffer assez forte-

ment en début d'opération, ce qui entraîne une perte d'arsenic sous forme d'hydrogène arsénié.

2°) Le sulfure d'arsenic s'accompagnant généralement d'un peu de soufre libre, la réduction par le mélange carbonate et cyanure alcalin entraîne la formation d'une certaine quantité de sulfarsénite de sodium non volatil, qui immobilise ainsi une certaine proportion d'arsenic.

3°) La moindre trace d'air, toujours à craindre dans l'appareil de FRESENIUS & BABO, risque de transformer l'arsenic condensé en anhydride arsénieux non décelable.

4°) Le mélange alcalin risque à haute température de faire éclater le tube de verre.

5°) Les matières organiques qui, très souvent, accompagnent les faibles traces d'arsenic subissent une carbonisation et fournissent des produits goudronneux qu'on peut confondre avec l'anneau d'arsenic.

6°) Enfin, ce procédé fort long n'atteint pas la sensibilité de la méthode de MARSH.

Cette méthode ne présente donc à l'heure actuelle, qu'un intérêt historique.

2 - Procédé de BERZELIUS modifié par DUFLOS & HIRSCH.

Le précipité de sulfure d'arsenic obtenu en traitant le liquide de destruction par SH_2 est dissout dans l'ammoniaque. La solution obtenue est évaporée, et le résidu encore humide additionné de deux fois son poids de $CO_3 Na_2$ sec. Avec la pâte obtenue, on fait des cylindres, qui, après dessication à température aussi basse que possible, sont introduits dans un tube à analyse en verre dont une extrémité est effilée. Ce tube est ensuite traversé par un courant d'hydrogène sec. L'appareil étant plein de gaz, on dessèche avec précaution les cylindres que l'on soumet ensuite à un coup de feu. L'arsenic vient alors se

condenser à l'épaulement de la partie effilée du tube à analyse (DRAGENDORFF) (89).

Cette méthode d'intérêt purement historique, comme la précédente, n'est pas recommandable selon ROSE (257), car on risque de volatiliser une partie de l'arsenic en hydrogène arsénié, et de confondre l'arsenic et l'antimoine (qui donne la même réaction).

3 - Procédé de ZWENGER (256).

ZWENGER a également énoncé un procédé de recherche de l'arsenic :

le précipité de sulfure d'arsenic dérivant de la destruction organique est dissout dans l'acide nitrique. On évapore et on reprend par de l'eau distillée. La solution d'acide arsénique ainsi obtenue, traitée par un mélange ammoniaco-magnésien, fournit un précipité qui est ensuite trituré avec du charbon, du carbonate de sodium et de l'oxalate sec. On introduit le tout dans un tube en verre peu fusible fermé à un bout et renfermant une quantité importante d'oxalate de sodium. On chauffe légèrement pour chasser l'air. On scelle le tube et on chauffe le mélange. L'arsenic vient se condenser en un anneau à une extrémité.

Ce procédé d'une manipulation compliquée est peu sensible, puisqu'il ne permet de déceler que 0,02 mg d'arsenic, ce qui est insuffisant en toxicologie.

C - METHODES DIVERSES.

I - Méthode biochimique de GOSIO (126).

Au siècle dernier, on a pu constater des cas d'intoxication par des tentures colorées au moyen de produits arsenicaux. En même temps, on percevait une très nette odeur alliacée. BASEDOW, en

1846, l'attribua aux moisissures. FLECKA, en 1872, constata que des moisissures se développaient très bien au contact de composés arsenicaux (mucor, aspergillus, penicilium).

La "Penicilium brevicaule", réactif "vivant de l'arsenic", selon l'expression même de GOSIO, a permis à cet auteur en 1892 de rechercher l'arsenic. "Sur des tranches escavées de pomme de terre, on place le corps suspect, on ensemence la pomme de terre après stérilisation de celle-ci avec 0,5 ml d'eau stérile contenant en suspension des spores de Penicilium brevicaule. La présence de l'arsenic est décelée au bout de 24 heures par une forte odeur alliacée".

SEGALE (263) en 1904 utilisa la méthode de GOSIO en vue de déceler l'arsenic normal dans divers organes.

REMENEC (255) reprit la technique pour doser l'arsenic dans la gélatine, et montra le rôle du substrat nutritif, les meilleurs résultats étant obtenus avec le glucose, le levulose, le saccharose.

SMITH & CAMERON (270) recommandèrent de cultiver sur milieu de CZAPEK (NO_3Na, PO_4HK_2, SO_4Mg, ClK et agar-agar).

La méthode biochimique de GOSIO ne permet cependant, en aucun cas, de faire un dosage. Elle est essentiellement subjective et n'apporte aucune preuve matérielle et durable de la présence d'arsenic.

2 - Méthodes colorimétriques.

DENIGES (79) a décrit un arsénio-conjugué céruléo-molybdique. ZINZADZE (307) a basé sur le même principe un dosage colorimétrique de l'arsenic avec et sans chlorure stanneux.

POLJAKOW & KOLOKOLOW (243) ont indiqué un dosage colorimétrique de l'arsenic par la méthode FEIGL (addition d'une solution de molybdate d'ammonium et d'une solution chlorhydrique de chlorure stanneux, ébullition, extraction de la matière colorante brun vert ou jaune

vert formée par l'alcool amylique).

GAUDY & ANTOLA (118), ont proposé plus récemment un semi-microdosage de l'arsenic, par la couleur jaune intense du trisulfure d'arsenic colloïdal.

3 - Méthode de FABRE & CISMARU.

Signalons la technique plus récente, établie par FABRE & CISMARU (1940) (101), pour suivre l'élimination rénale de l'arsenic. Après minéralisation de l'urine par le mélange oxydant : ClO_3K + ClH, qui transforme l'arsenic en acide arsénique AsO_4H_3, on utilise la propriété de ce dernier de donner, comme PO_4H_3, un sel ammoniaco-magnésien insoluble. L'acide phosphorique existant à doses relativement élevée dans l'urine, si l'on ajoute à ce liquide, préalablement minéralisé de la mixture magnésienne (solution ammoniacale de chlorure de magnésium en présence d'un excès de chlorure d'ammonium), il apparait un abondant précipité de phosphate ammoniaco-magnésien qui entraîne tout l'arsenic éventuellement présent. Sur le précipité mixte ($PO_4Mg\ NH_4$ + $As\ O_4\ Mg\ NH_4$) convenablement lavé, on peut ensuite effectuer le dosage de l'arsenic de diverses manières : méthode type CRIBIER, techniques basées sur l'utilisation du réactif de BOUGAULT, et en particulier celle de HARISPE (143) dans laquelle le précipité d'arsenic reste emprisonné dans un gel de silice (détermination néphélométrique).

D - METHODES DE SEPARATION DE L'ARSENIC PAR PRODUCTION D'HYDROGENE ARSENIE.

Dans toutes les méthodes que nous allons envisager, le premier temps de la réaction réside dans la formation d'hydrogène arsénié, obtenu au moyen de l'hydrogène naissant à partir des divers composés oxygénés ou même chlorés de l'arsenic.

$$As_2O_3 + 12\ H \longrightarrow 2\ AsH_3 + 3\ H_2O$$

$$AsO_4H_3 + 8\ H \longrightarrow AsH_3 + 4\ H_2O$$

$$Cl_3As + 6\ H \longrightarrow AsH_3 + 3\ ClH.$$

Cet hydrogène naissant peut être obtenu de deux façons :

- 1°) procédé chimique par attaque du zinc au moyen d'un acide.

- 2°) procédé d'électrolyse de l'acide sulfurique dilué avec diaphragme poreux, permettant d'obtenir l'hydrogène dans une cuve cathodique à l'abri de l'oxygène.

L'hydrogène arsénié une fois formé, sera caractérisé dans l'hydrogène qui se dégage de l'appareil générateur. De nombreuses méthodes ont été indiquées :

I - HYDROGENE ARSENIE DETECTE PAR DISSOCIATION THERMIQUE.

A - Méthode de MARSH chimique.

1) Technique de J. MARSH.

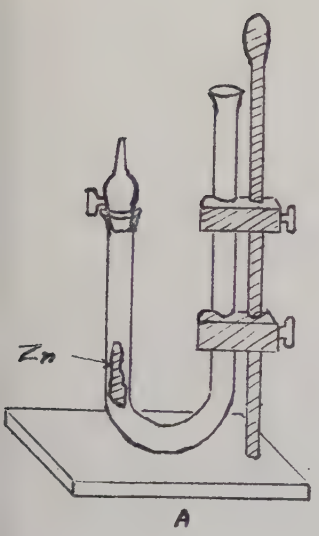
C'est en Octobre 1836 que parut pour la première fois la technique de James MARSH (215 - 216) dans l'Edinburgh New Philosophical Journal.

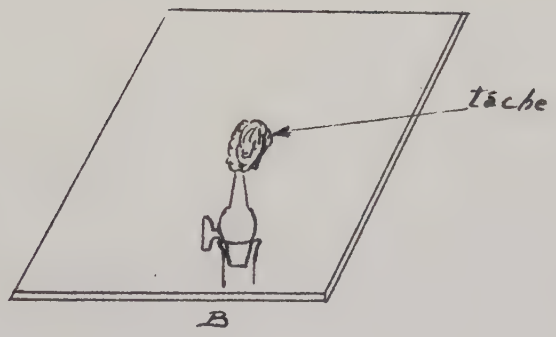
Elle ne fut connue en France qu'en 1837. Elle sonna le glas des empoisonnements aigûs criminels arsenicaux jusque là toxicologiquement inconnus.

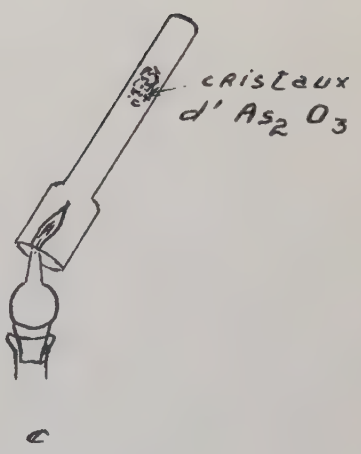
La méthode originale est basée sur la détection de l'hydrogène arsénié par combustion à l'air. MARSH montra que :

1. - Si l'AsH_3 est comburé en présence d'un excès d'oxygène, sa combustion est totale avec transformation de l'arsenic en As_2O_3 gazeux, vu la température de réaction de l'hydrogène en vapeur d'eau.

APPAREIL de J. MARSH







As_2O_3 est détecté soit par son odeur alliacée, soit par condensation sur une paroi froide.

2. - Si AsH_3 est comburé en présence d'un défaut d'oxygène, c'est l'hydrogène qui sera préférentiellement oxydé, alors que l'arsenic sera transformé en As_o (noir).

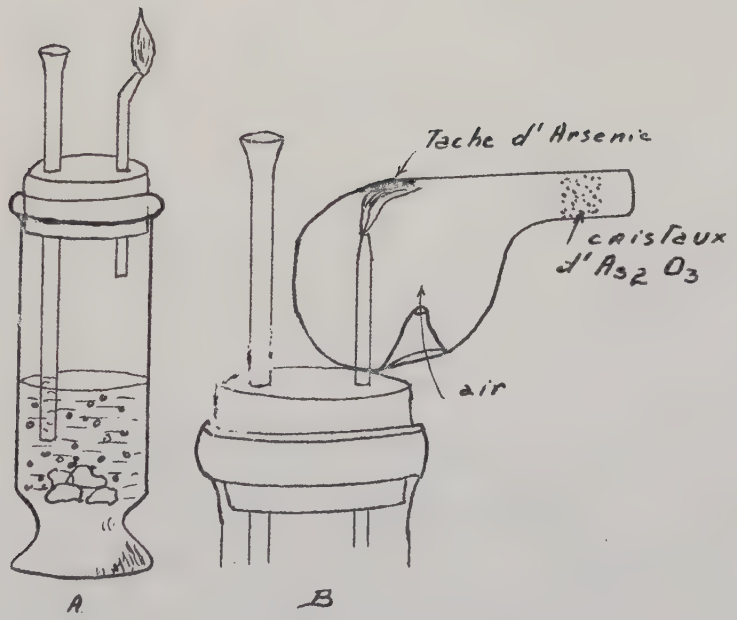
L'appareil primitif (A) est essentiellement constitué par un gros tube de verre en U, dont la petite branche munie d'une lame de zinc sert de générateur d'hydrogène et d'hydrogène arsénié. Un robinet à bec effilé permet le départ des gaz. La solution arsenicale est introduite par la grande branche. Les gaz sont enflammés (B) et la flamme écrasée sur un corps froid, (tesson de porcelaine par exemple) donne en présence d'arsenic une tache noire qui d'ailleurs n'est autre que de l'arsenic.

Pour la première fois en toxicologie, on abandonnait les méthodes conventionnelles peu sensibles, et peu spécifiques de détection de l'arsenic, et on extrayait un toxique à l'état pur d'un milieu complexe, mais les inconvénients de la nouvelle méthode étaient nombreux : l'hydrogénation étant discontinue, aucun dosage n'était possible, l'essai de pureté des réactifs était impossible, la fréquence des explosions était grande et l'appareil réputé dangereux. La formation de mousse, entraînée par le dégagement de l'hydrogène au sein d'un liquide riche en matières protéïques et formant une émulsion gazeuse refusant de s'enflammer était le désespoir des opérateurs de l'époque.

MOHR & ORFILA (231) modifièrent l'appareil, sans toutefois en changer le principe.

CHEVALLIER (53) introduisit le générateur continu, aujourd'hui classique. Le tube d'adduction permet, en présence d'un excès de zinc de purger préalablement l'appareil de l'air qu'il contient par addition de SO_4H_2, puis ultérieurement d'admettre la solution arseni-

APPAREIL de CHEVALLIER



nicale à étudier.

Ainsi tout danger d'explosion se trouve pratiquement écarté, l'essai des réactifs peut être préalablement effectué, le débit d'hydrogène régularisé ; la combustion à l'air étant continue, le dosage devient possible.

D'autres modifications sont alors intervenues. DRAPER (256) remplaça le zinc par du magnésium, FLANDIN & DRANGER (104) brulèrent AsH_3 et reprirent par l'eau, l'acide arsénieux formé.

Pour cela, ces auteurs équipèrent le générateur de CHEVALLIER d'un tube à tirage qui débouchait dans un autre tube tronconique ouvert à sa partie inférieure : la chambre de combustion des gaz. Un second tube tronconique plein d'eau jouait le rôle de réfrigérant condenseur.

Les vapeurs d'As_2O_3 ainsi refroidies se dissolvaient dans la vapeur d'eau condensée et sur la solution aqueuse pure d'As_2O_3 on effectuait les réactions de détection de l'arsenic.

2) Formation d'arséniure de cuivre.

Méthode de BERZELIUS (22 - 23 - 24).

L'AsH_3 à chaud peut se combiner au cuivre pour donner de l'arséniure de cuivre gris métallique.

A un générateur de MOHR ou mieux de CHEVALLIER, BERZELIUS adaptait un tube de dégagement horizontal, en verre, contenant une spirale de cuivre pur préalablement soumise à un courant hydrogène, pour réduire les traces d'oxyde,,puis pesée. On faisait passer les gaz d'hydrogénation de la solution arsenicale dans ce tube. L'arsenic était dosé soit par l'accroissement pondéral de la spirale, soit en solubilisant le cuivre dans l'acide chlorhydrique.

Méthode de SOUBEIRAN & DUMAS (272).

Elle consistait à faire barboter le gaz d'hydruration dans une solution aqueuse de chlorure ou de sulfate de cuivre. Il se formait un précipité noir d'arséniure de cuivre.

Ces méthodes sont aujourd'hui abandonnées du fait de leur manque de spécificité et surtout en raison des difficultés que l'on rencontre dans l'ionisation ultérieure de l'arsenic fixé à ce métal.

3) - Méthodes basées sur l'oxydation d'AsH_3 en milieu aqueux par l'ion Ag.

Elles sont basées sur la réaction que SOUBEIRAN (272) décrivit en 1830. L'AsH_3 barbotant dans une solution neutre de NO_3Ag donne un précipité noir d'argent par suite de l'oxydation de l'arsenic en ion AsO_3^{--} .

Cette réaction fut appliquée toxicologiquement par LASSAIGNE (189), THOMAS (256), GRAHAM (128), REICHARDT (246 - 247), MEILLERE (221), DENIGES (74).

A priori, elle paraît simple et pratique. En réalité, elle manque de sensibilité et surtout de spécificité : SH_2, PH_3, SO_3H_2 entraînent, dans les mêmes conditions opératoires, l'apparition d'un précipité noir.

4) - Action des oxydants par voie humide.

MERVILLE (256) montra qu'en présence d'eau, le chlore, le brome, l'iode, les hypochlorites, de même que les iodates, périodates et permanganates en milieu acide oxydaient quantitativement l'AsH_3 en ion arsénique.

5) - Pyrolyse d'AsH_3

LIEBIG & SOUBEIRAN en 1830, constatèrent les premiers que si l'on chauffait suffisamment un tube traversé par un courant d'AsH_3,

il se formait en aval du point de chauffe, dans la partie froide un dépôt annulaire, miroitant d'arsenic métallique. C'est l'anneau dit "de MARSH".

FRESENIUS & LIEBIG proposèrent une modification essentielle : à la sortie (111) du générateur, les gaz sont amenés dans un tube horizontal, chauffé en son milieu par une lampe à alcool ; à l'extrémité du tube horizontal, les gaz sont enflammés dans un grand ballon de verre. Le résultat obtenu par cette méthode est identique à celui donné dans la méthode originelle de MARSH ; mais nous avons affaire à une dissociation physique au lieu d'une combustion incomplète.

L'appareil de CHEVALLIER (55) était pratiquement constitué d'un appareil de BERZELIUS dont le tube de dégagement horizontal reposait sur un fourneau à charbon, l'hydrogène étant enflammé à sa sortie.

S'inspirant de cette profonde modification, l'Académie des Sciences préconisa, en 1856, l'appareil décrit ci-dessous :

"L'appareil est composé d'un flacon à col droit portant un bouchon à deux trous, l'un donnant passage à un tube droit de 1 cm de diamètre, plongeant dans le liquide, l'autre à un tube abducteur muni d'une boule, puis recourbé à angle droit et communiquant avec un tube large qui contient de l'amiante ou du coton, pour retenir les gouttelettes acides entraînées : ce tube se rejoint à un autre tube en verre peu fusible de 2 à 3 mm de diamètre intérieur, et revêtu de clinquant sur 10 cm de longueur environ. Cette partie du tube est placée sur une petite grille et chauffée avec des charbons incandescents . Peu après la région chauffée, l'arsenic, provenant de la dissociation thermique de AsH_3, se condense en un anneau miroitant". (Cf. Traité de Chimie Toxicologique de KOHN-ABREST (178)).

C'est alors que DRAGENDORFF (90) dessécha les gaz sur du chlorure de calcium, que NAQUET (227) proposa de remplacer le zinc susceptible d'être arsenical par l'amalgame de sodium, que THIELE (279 - 280)

utilisa le fer électrolytiquement pur, que MEILLERE (221) retint les gouttelettes acides entraînées mécaniquement dans une allonge verticale remplie de zinc pur laminé, puis dessécha les gaz sur du phosphate de sodium sec.

Puis KOHN-ABREST (178) utilisa l'aluminium activé par immersion dans une solution de sublimé.

GAUTIER (119) s'attacha à cette époque au problème et, contrairement à l'opinion de DRAGENDORFF et d'autres auteurs, admit que tout l'arsenic introduit dans l'appareil de MARSH passait bien à l'état de AsH_3 et qu'il ne se formait pas dans le générateur d'arsenic métalloïdique ou d'hydrure solide d'arsenic non décomposable. Il indiqua également qu'il fallait éviter d'utiliser de l'acide sulfurique trop dilué, car "on étend outre mesure la solution arsenicale, on s'expose à laisser une partie de l'arsenic dans l'appareil et l'on s'astreint à faire durer l'opération d'une manière indéfinie". C'est également l'opinion de G. BERTRAND (18), qui frappé par l'irrégularité de la méthode de MARSH, pour les très faibles doses d'arsenic, s'est attaché à trouver les raisons de ces pertes d'arsenic.

Une première cause est la présence d'oxygène due à une purge défectueuse. La deuxième résulte de la limite de la tension de dissociation de AsH_3. Une troisième condition indispensable pour augmenter la sensibilité de la méthode de MARSH est de bien condenser l'arsenic.

Gabriel BERTRAND (18) introduisit pour améliorer le rendement de l'appareil :

1°) le chauffage par rampe à gaz, qui permet une régularisation dans le temps, de la température.

2°) la réfrigération de l'anneau par une technique simple et efficace, encore utilisée aujourd'hui, qui consiste à entourer le

tube à réaction, dès sa sortie du four, par une bandelette de papier filtre imbibée en continu par un goutte à goutte d'eau froide. De ce fait, la température du mélange gazeux passe en quelques centimètres de 600° à 20°. Ce brusque abaissement de la température focalise l'anneau, accroissant de ce fait la sensibilité de la réaction par une visualisation maximum. Des écrans en amiante, chevauchant le tube de part et d'autre du four, s'opposent par ailleurs au rayonnement de la chaleur. De cette manière, G. BERTRAND est arrivé à déceler 0,5 µg d'arsenic.

JADIN & ASTRUC (155 - 156) ont cherché à purger efficacement l'appareil ; ils ont préféré l'hydrogène au gaz carbonique, pour chasser l'eau emplissant le générateur. Avec un appareil modifié, dérivant d'un flacon de DURAND et permettant de déceler facilement 1 µg d'arsenic, ces auteurs ont pu se livrer à d'intéressantes recherches sur ce cation à l'état normal dans le règne végétal (107).

BERNSTEIN & MAYRHOFER ont recommandé de platiner ou d'argenter le zinc.

MEUNIER a montré que l'acide sulfurique devait être exempt de sélénium car l'acide sélénieux et les sélénites sont réduits en SeH_2, susceptibles d'être dissociés (256).

WARD (304) s'est élevé contre l'emploi du coton comme desséchant des gaz. Les vapeurs acides attaqueraient la cellulose qui retiendrait de ce fait de l'arsenic. Mieux vaut utiliser la laine de verre.

CHATTERJI & Coll. (51) ont indiqué que l'arsenic devait être amené sous forme arsénieuse avant d'être introduit dans l'appareil. DAVIS & MALTY sont du même avis (256).

En 1935, BOSC (32) a proposé un nouveau dispositif de l'appareil de MARSH muni d'un tube desséchant à Cl_2Ca comportant un

coton imprégné d'acétate de plomb et un coton sec.

L'appareil utilisé aux environs de 1938 dans le Laboratoire de FONZES-DIACON (d'après RIVEMALE) (256) se composait d'un flacon générateur, à large goulot, de 125 ml de capacité environ, muni d'un bouchon de liège paraffiné laissant passer par deux trous un entonnoir à robinet dont la douille arrive au fond du générateur et un tube porte coton coudé à angle droit. Le générateur est refroidi par immersion dans un cristallisoir plein d'eau.

Ce tube porte-coton est fermé à son extrémité élargie par un tube de liège également paraffiné, percé d'un trou par lequel s'échappe un long tube de verre peu fusible muni en son milieu de clinquant sur 10 à 15 cm de longueur environ. Ce tube repose par son clinquant sur une grille à gaz. A la sortie de la grille, le tube est refroidi par un goutte à goutte d'eau tombant sur une bandelette de papier filtre. L'extrémité du tube plonge par un raccord coudé dans un verre à pied contenant une solution de NO_3Ag qui, par son absence de trouble, permettra de savoir si la dissociation thermique de AsH_3 a été complète durant l'opération.

C'est avec un tel appareil que RIVEMALE étudia systématiquement les différentes phases de la transformation de l'arsenic en AsH_3, puis de la formation de l'anneau. Cet auteur, a précisé comment l'on pouvait maîtriser la formation de l'hydrogène (importance énorme des facteurs qui modifient l'activation du zinc sur la vitesse de dégagement de l'hydrogène). Le débit gazeux est proportionnel à la concentration en acide sulfurique à la surface d'attaque du zinc. D'où l'intérêt d'employer non pas de la grenaille, mais "un seul boulon" platiné en surface, réagissant sur du SO_4H_2 à 20 % maximum et maintenu à 0°.

RIVEMALE a ensuite montré qu'à tout moment, il y avait un rapport constant entre la concentration de l'arsenic dans l'hydrogène

et la concentration de l'arsenic dans le liquide. Tout se passe comme si l'arsenic sous sa forme volatile était entraîné par le courant d'hydrogène. On peut appliquer à cette volatilisation les lois bien connues de l'entraînement par la vapeur d'eau établies par JAULMES (158 - 159). Le coefficient de passage de l'arsenic dans l'hydrogène s'élève à 0,07 en moyenne. L'arsenic pentavalent passe toutefois moins vite que l'arsenic trivalent, sous forme d'AsH_3 (K = 0,04).

RIVEMALE a ensuite fait de nombreux essais en vue d'améliorer la dissociation thermique de l'hydrogène arsénié. La conclusion de cette étude est qu'il faut, sans exagération, augmenter le volume gazeux soumis à l'action de la chaleur et qu'il y a intérêt à ne pas réaliser cette dissociation au dessus de 750° C.

KOHN-ABREST (179) a recommandé l'emploi d'un tube en quartz de 30 cm de long et de 4 à 5 mm de diamètre intérieur, chauffé par un four électrique permettant de réaliser une température uniforme de 850° C.

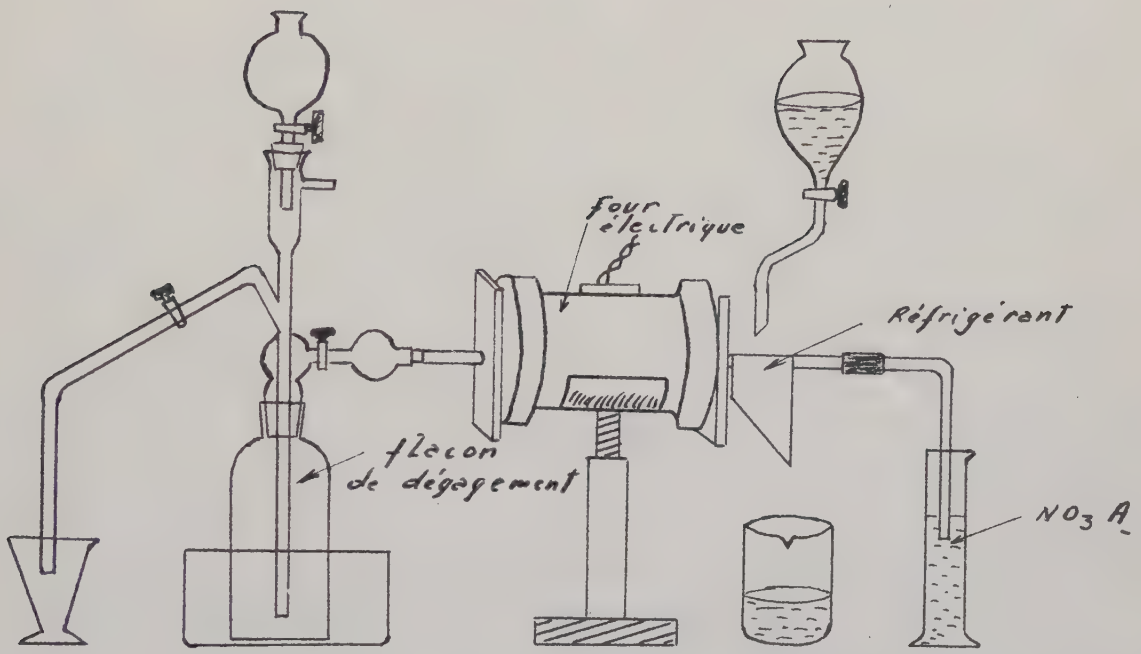
Son appareil est universellement utilisé aujourd'hui. Il présente les améliorations suivantes : le générateur comprend un système de siphon permettant une rapidité accrue de la purge de l'air contenu initialement dans l'appareil. Un four électrique donne une maîtrise de chauffe absolue. Le tube à pyrolyse est en silice fondue et à rodages interchangeables, obviant à tous les inconvénients des anciens tubes dits "de MARSH".

Outre les conditions optimum de formation d'AsH_3 antérieurement envisagées, il est nécessaire pour obtenir les anneaux de MARSH, de tenir compte des observations suivantes :

- opérer en l'absence totale d'air pour éviter la formation d'As_2O_3 (purge rigoureuse de l'appareil avant sa mise en fonctionnement)
- opérer la pyrolyse en l'absence totale de vapeur d'eau pour éviter également, mais à haute température, la formation d'As_2O_3.

$$2As_{\circ} + 3H_2O \rightleftharpoons As_2O_3 + 3H_2.$$

APPAREIL de KOHN-ABREST



- réfrigérer énergiquement la partie du tube où doit se focaliser l'anneau.

- opérer avec une solution arsenicale aussi concentrée que possible.

- opérer avec un générateur de telle capacité que le volume gazeux résiduel soit aussi faible que possible.

La présence d'un anneau n'est cependant pas la preuve absolue de la présence d'arsenic, car l'antimoine donne une réaction similaire de même que le fer, les hydrocarbures etc...

L'identification absolue de l'arsenic dans l'anneau est basée, soit sur les caractères organoleptiques, soit sur les réactions analytiques ou microchimiques qu'il peut donner.

Parmi les caractères organoleptiques et chimiques de l'arsenic citons :

- l'anneau se déplace dans un courant d'hydrogène ; il s'oxyde dans un courant d'oxygène en As_2O_3 (octaèdres brillants visibles à la loupe).

- en présence de H_2S gazeux, il donne un sulfure jaune volatilisable, insoluble dans HCl gazeux.

- l'acide nitrique solubilise l'anneau, de même le sulfure d'ammonium.

- en présence de vapeurs d'iode, l'anneau se colore en jaune puis en brun.

- la solubilisation est rapide dans l'hypochlorite de sodium.

Il est également possible de réaliser des microcristaux d'arséniate d'argent (réaction de DENIGES) (74), d'opérer la réaction de BOUGAULT à l'hypophosphite de sodium, soit directement sur l'anneau, soit selon la modification de MERVILLE et DEQUIDT (287).

B - Méthode de MARSH électrolytique.

D'après ce que nous venons de dire, il semblerait qu'aujourd'hui l'appareil de MARSH ait atteint la perfection. Mais, différents points sont encore discutables , ce sont :

- la pureté des réactifs,
- la régularité du débit gazeux,
- la quantité d'hydrogène d'entraînement dégagé.

Or, il existe un autre moyen de produire de l'hydrogène naissant : l'électrolyse qui exclut l'usage du zinc, et qui nécessite une quantité minime de SO_4H_2. Le dégagement est remarquablement constant, le débit à la demande et sa durée pratiquement illimitée.

Etant donné ces avantages, il parait difficile de penser que cette technique ne soit pas plus répandue.

Le premier appareil de ce type fut utilisé par MORTON vers 1850. Il se heurta à de graves difficultés : hydrogénation partielle de l'arsenic, l'anode oxyde ce qui est réduit par la cathode, le passage du courant élève la température, l'arsenic ne se déposant pas sur la cathode...

C'est pour remédier à ces inconvénients que des modifications furent apportées.

GAULTIER de GLAUBRY utilisa de même que OSANN un électrolyseur en forme de U. Il a pour avantage d'éviter le mélange de l'oxygène dégagé avec la zone d'hydrogénation. L'appareil de BLOXAM (29) assura du moins théoriquement l'hydrogénation de la solution arsenicale seule par l'interposition d'une membrane hémiperméable.

C'est cette technique modernisée, qui est aujourd'hui utilisée en Angleterre.

Dans la méthode de THORPE (283), AsH_3 subit la dissociation

thermique ; dans la méthode de HEFTI (144), AsH_3 est amené à réagir avec Cl_2Hg.

KELVIN a mis au point un électrolyseur du même type, muni de plusieurs perfectionnements et BRUNO en a donné une excellente description (41).

CHELLE & LAMBERT (186) ont utilisé un appareil similaire à celui de BLOXAM ; ils ont cependant remplacé la membrane de parchemin par un vase poreux de pile. Ils ont étudié en particulier l'influence de la nature de la cathode sur le rendement en AsH_3 et montré que c'était le plomb qui donnait lieu au minimum de dépot cathodique arsenical.

CASTAGNOU & FAURE (45 à 48) ont employé un appareil à cathode de plomb.

Le bac cathodique est constitué par un tube de verre assez allongé (pour retenir les projections liquidiennes) terminé à sa partie inférieure par un renflement annulaire d'une capacité de 20 à 30 ml contenant la cathode en plomb sous forme d'un disque perforé, suspendu par un fil de platine conduisant le courant.

La partie inférieure de ce renflement est obturée par une plaque de viscose maintenue avec du fil de nylon.

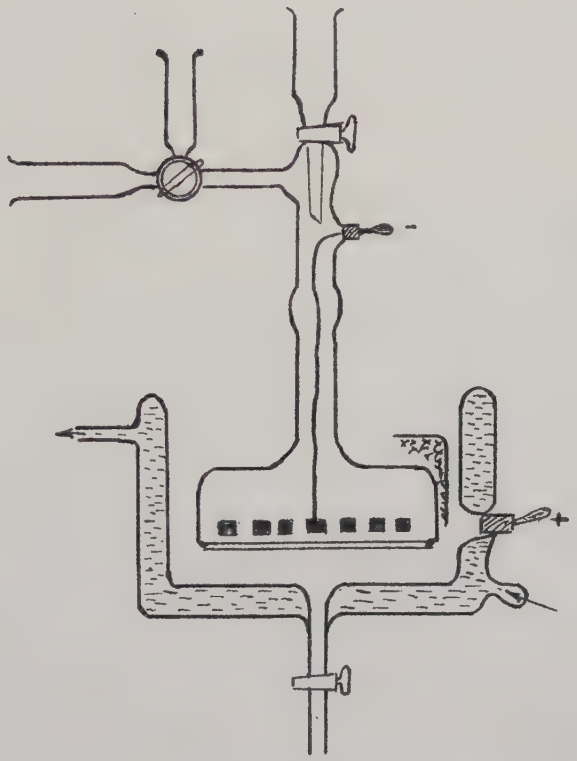
Le réservoir anodique est à double paroi pour permettre le passage de l'eau de réfrigération du système, et contient la grille anodique en platine.

La solution arsenicale est placée dans le bac cathodique, une solution à 10 % de SO_4H_2 sert d'électrolyte anodique.

Le courant électrique appliqué est de 2,5 ampères sous 4 volts.

Les résultats obtenus montrent que l'hydrogénation doit

METHODE ELECTROLYTIQUE de FAURE et CASTAGNOU



durer beaucoup plus longtemps que dans la méthode classique de MARSH (6 à 8 heures au lieu de 2) et qu'il existe une diffusion de l'ordre de 7 % de l'arsenic dans le bac anodique.

Les MARSH électrolytiques ont fait l'objet de très nombreuses recherches et certains appareils sont donnés comme permettant de doser 0,2 µg d'arsenic. Ils sont utilisés en particulier aux U.S.A. pour le dosage de l'arsenic dans les eaux. Malgré tout, ils ne semblent pas encore être parfaitement au point.

II - AsH_3 DETECTE PAR ACTION SUR PAPIERS REACTIFS.

A - Méthodes chimiques de production de l'hydrogène.

Les méthodes reposent toutes, comme celle de MARSH, sur la réduction, par l'hydrogène naissant, en solution acide, des composés oxygénés de l'arsenic en hydrogène arsénié.

Pour caractériser ce gaz, on le fait agir, après dessication convenable, sur des papiers imprégnés de solution de sels métalliques avec lesquels il fournit des colorations foncées. Les papiers imprégnés de chlorure mercurique ont été les plus utilisés. Certains auteurs ont cependant employé le nitrate ou le citrate d'argent.

1) - Réactif au nitrate d'argent.

- Méthode de GUTZEIT (140).

L'AsH_3 réduit les sels d'argent en solution, en donnant un précipité d'argent métallique, de coloration jaune en solution concentrée (DENIGES) (75), (VALEUR) (128), noire en solution diluée. Cette méthode a été utilisée par HOFFMANN (152), REICHARDT (246 - 247), BRETEAU (40) pour le dosage de l'arsenic en présence d'antimoine.

GATEHOUZE (117), puis GUTZEIT (140), suivis de JOHNSON & FLEURY (106) ont eu l'idée de faire réagir AsH_3 sur un papier imprégné

de NO_3Ag. Par comparaison de la tache obtenue avec une gamme étalon, il est possible de doser l'arsenic par cette technique aujourd'hui connue sous le nom de méthode de GUTZEIT. Mais, selon LECLERE (191) & CRIBIER (64 - 65) elle manque de spécificité.

- Méthode de MARTIN & PIEN (218).

MARTIN & PIEN ont repris la technique de GUTZEIT, ils ont cherché à en augmenter la spécificité et la sensibilité. La fixation des taches a également attiré leur attention : pour cela, sitôt obtenues, elles sont immergées durant une heure dans une solution ammoniacale à 1 %, puis les papiers lavés à l'alcool, séchés à l'air libre, sont plongés dans une solution de paraffine à 5 % dans l'éther de pétrole, essorés entre deux feuilles de papier filtre sans cendre, et séchés à nouveau à l'air libre.

BERTIN (15) affirme que c'est la seule méthode pratique et sensible pour le dosage de l'arsenic dans les vins. Il reconnait cependant que les témoins négatifs fournis par cette méthode ne sont jamais nuls ; ce qui est comme l'indique RIVEMALE (256) un grave défaut.

- Semi-microdosage d'ALLCROFFT & GREEN (2).

Ces auteurs ont proposés en 1935 un dosage volumétrique de l'arsenic dans les milieux biologiques, au moyen d'une solution titrée d'iode en présence d'empois d'amidon et d'une quantité suffisante d'iodure de potassium pour maintenir l'argent en solution. Ils assurent que la sensibilité de leur méthode est de l'ordre de 5/1000 de mg d'As_2O_3.

2) - Réactif au chlorure mercurique.

Sous l'influence de l'hydrogène arsénié, le papier au chlorure mercurique prend une coloration jaune, orangée ou brune suivant les doses d'arsenic. C'est la Méthode de MAYENCON & BERGERET (219).

- Méthode de MAYENÇON & BERGERET.

Cette technique décrite en 1874 et reprise par FLUCKIGER (107), LANGMUIR (188), DOWZARD (87 - 88), LOCKEMANN (211), KIRKBY (173 - 174), BIRD (26 - 27) & SANGER (259 à 262) semble mettre en jeu la formation de composés arsénomercuriels du type AsH_2 (HgCl), AsH $(HgCl)_2$ et As $(HgCl)_3$. La coloration n'est pas spécifique (SH_2 et PH_3 , en particulier, produisent des colorations).

On évite ces interférences en transformant par oxydation les composés soufrés, susceptibles de leur donner naissance, en SO_4H_2 et PO_4H_2 acides, qui ne sont pas réductibles à froid par l'hydrogène naissant, contrairement à l'acide arsénique simultanément formé par oxydation des composés arsenicaux.

Une telle oxydation est réalisée par les méthodes classiques de destruction des matières organiques. On peut, le cas échéant, la parfaire par addition à froid, en milieu sulfurique, de quelques gouttes d'une solution diluée de permanganate de potassium, dont l'excès est ensuite détruit par une trace d'eau oxygénée.

Mais un inconvénient plus grave est l'extrême instabilité de la coloration fournie par AsH_3, elle devient grise, puis disparait très rapidement sous l'influence de la lumière, de la chaleur et de l'humidité.

En 1921, CRIBIER (64) a proposé pour la stabiliser, l'immersion dans une solution de IK au 1/10° ; l'excès de sel mercurique du papier réactif est dissout sous forme d'iodomercurate de potassium et la coloration jaune devient brun foncé, plus ou moins rougeâtre. Elle est à la fois stabilisée (conservation du test possible, même à la lumière pendant plus de six mois) et sensibilisée (on peut apprécier jusqu'à 1 µg d'arsenic).

En opérant dans des conditions bien définies, l'intensité

de la teinte et la longueur de la tache sont proportionnelles à la quantité d'arsenic contenue dans la solution. En la comparant avec les teintes d'une échelle obtenue dans les mêmes conditions, on peut déterminer le poids d'arsenic de la solution examinée pour des doses allant de 1 à 200 µg.

Pour éviter les défauts de la méthode de MAYENÇON & BERGERET (219), CRIBIER a eu une idée qui lui permit de supprimer une autre difficulté. La tache obtenue pour une même quantité d'arsenic, sous l'action de AsH_3 n'a pas la même valeur selon que AsH_3 dérive des arséniates ou des arsénites. La réaction est plus rapide pour ces derniers. Il s'ensuit que les taches obtenues n'ont pas le même aspect dans les deux cas : longue et pâle pour les arsénites, courte et foncée pour les arséniates. Pour uniformiser ces résultats, certains auteurs : (ALLEN) (3), (BIRD) (26 -27), (DUNSTAN & ROBINSON) (93), (SANGER & BLACK) (261 - 262), (KLING) (175), ainsi que la Pharmacopée Américaine (236 - 237) avaient songé à transformer les arséniates en arsénites par réduction au moyen de chlorure stanneux ou cuivreux ou encore d'anhydride sulfureux). Devant leurs résultats, assez peu satisfaisants, CRIBIER pensa qu'il vallait mieux faire l'inverse : transformer les arsénites en arséniates par oxydation permanganique, ce qui présentait, on outre, l'avantage, comme nous l'avons signalé, de supprimer les gaz génants.

La réduction de l'arsenic à l'état d' AsH_3, et la réaction de ce dernier sur le papier au Cl_2Hg sont réalisées dans un appareil spécial mis au point par CRIBIER.

L'appareil proposé inspiré de la méthode quantitative de SANGER & BLACK est remarquable par sa simplicité :

Cet appareil est essentiellement constitué par un flacon à large ouverture d'environ 150 ml, fermé par un bouchon en verre rodé portant un tube à dégagement central qui le traverse. Ce tube a, en général, 5 mm à 5,5 mm de diamètre extérieur et 30 cm de long. Il est

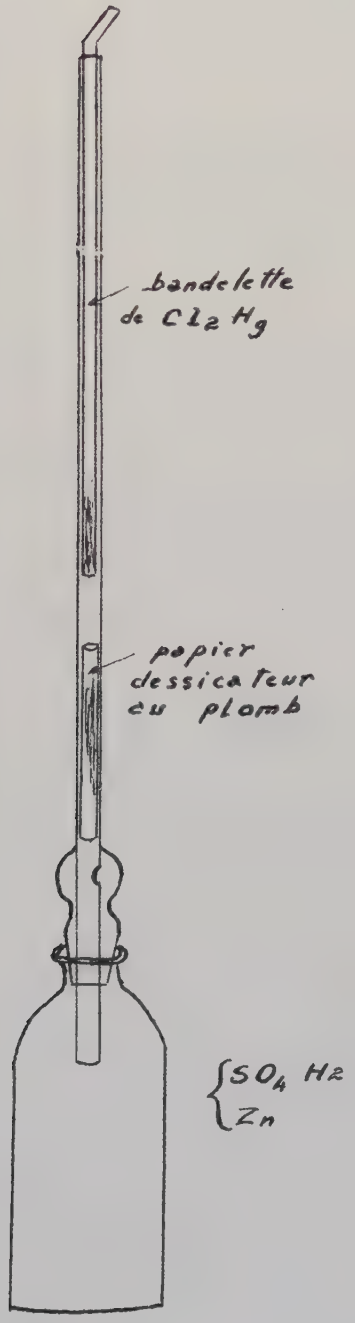
effilé à sa partie inférieure en forme de compte-gouttes. A 25 mm de la pointe, il présente une petite ouverture circulaire de 3 mm de diamètre, placée à environ 10 mm au-dessous de la partie inférieure du bouchon du flacon à réaction. Ce dispositif est destiné à empêcher l'entraînement dans le tube par le courant gazeux de gouttelettes de liquide. Ces gouttelettes se condensent sur le tube de verre et retombent dans le tube par la pointe effilée tandis que l'hydrogène, mêlé d'hydrogène arsénié, se dégage uniquement par l'ouverture circulaire latérale.

Comme dans la méthode de MARSH, le gaz doit être soigneusement desséché avant son passage sur le papier réactif, car l'humidité diminue considérablement la sensibilité de la réaction colorée. C'est la raison pour laquelle il faut introduire dans le tube, avant la mise en place du papier réactif, un rectangle de papier filtre bien sec de 40 mm x 100 mm préalablement enroulé sur une petite tige de laiton et poussé dans l'intérieur du tube à l'aide de cette tige de façon à affleurer le niveau de la partie supérieure du bouchon.

On met ensuite en place une bande de papier réactif bien sec, en l'introduisant par la partie supérieure et en manoeuvrant de manière qu'elle occupe l'axe du tube. La cavité de ce dernier est ainsi séparée en deux parties égales et le léchage du papier réactif par le gaz est assuré de façon uniforme et régulière. La bande doit arriver à 2 cm environ du rouleau de papier filtre pour le séchage.

Le liquide à examiner, soigneusement privé de toute trace de produits oxydants, (nitreux en particulier), est introduit dans le flacon de CRIBIER, et soumis à la réduction du zinc en milieu sulfurique. Les proportions de zinc et d'acide sulfurique sont rigoureusement déterminées de façon à régler le courant gazeux d'une manière constante, ce qui est très important puisque la longueur de la tache est, pour une même quantité d'arsenic, proportionnelle à la vitesse du courant gazeux. La réaction est d'autant plus régulière que cette vitesse est plus lente, il est en outre, indispensable de refroidir le

APPAREIL de CRIBIER



milieu en plongeant le flacon dans un récipient rempli d'eau glacée. On doit laisser le dégagement se continuer pendant 24 heures.

A la fin de l'opération, la bande de papier réactif est plongée dans une solution aqueuse d'IK au 1/10 pendant 15 à 30 mn. Après 2 ou 3 rinçages à l'eau distillée et séchage convenable, la teinte obtenue est comparée avec celle de l'échelle établie au préalable.

LINARD (204) utilisa la méthode de CRIBIER et s'en montra très satisfait. Cependant, la technique de CRIBIER a fait, depuis sa publication, l'objet de nombreuses remarques qui ont permis un certain nombre de perfectionnements.

En 1933, GRIFFON & BUISSON (133 - 134) se sont livrés à une étude très approfondie du procédé. Ils ont d'abord constaté de profondes divergences, au sujet des gammes, selon les opérateurs. C'est ainsi que CRIBIER (64), LEONARDON & DELEPINE (193 - 194), THORAL (282) LINARD (204), DARNIAT (70) et les deux auteurs ci-dessus ne sont nullement d'accord sur les longueurs des taches pour des doses identiques d'arsenic.

Selon GRIFFON & BUISSON, il faut voir la cause de ces divergences dans trois facteurs essentiels :

- surface d'attaque et activation du zinc,
- température du mélange réactionnel,
- texture du papier réactif.

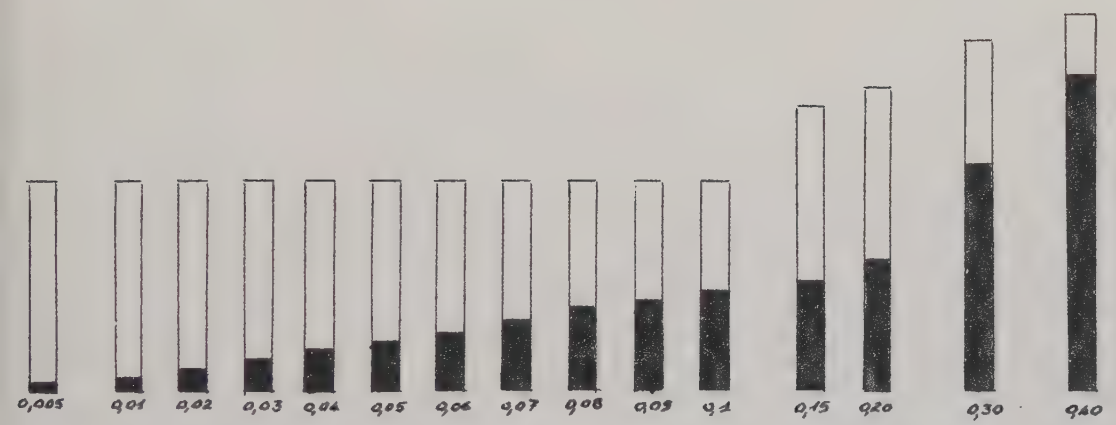
Ces auteurs indiquent, avec juste raison, que le zinc n'étant jamais pur, donc plus ou moins attaquable, il convient au cours d'essais préliminaires de doser l'activant, (chlorure de platine ou sulfate de cuivre), qu'il faut ajouter au zinc pour avoir un débit donné.

Le papier n'étant jamais identique sur les deux faces, on

TYPE D'ECHELLE POUR LE DOSAGE DE L'ARSENIC

Par la METHODE de CRIBIER

(Quantités exprimées en mg d'arsenic)



comprend aisément que les taches ne soient pas identiques. Pour éliminer toute cause d'incertitude, GRIFFON & BUISSON marquent d'un signe différent les deux faces du papier et observent toujours les taches du même côté.

Ces chercheurs ont également étudié le mécanisme de la réaction de CRIBIER du double point de vue, qualitatif et quantitatif. Pour cela, ils déterminent périodiquement dans les deux cas, pendant des temps égaux à partir de la mise en marche de l'essai réalisé à + 15°C, le dégagement de l'arsenic en valeur relative dans le premier cas, absolue dans le deuxième et le débit du courant gazeux pendant chaque période.

La conclusion des travaux de GRIFFON & BUISSON est la suivante :

"La technique de CRIBIER est extrêmement sensible. Elle appartient au groupe des méthodes analytiques essentiellement comparatives. A ce titre, il convient pour l'utiliser dans les meilleures conditions d'en suivre exactement les moindres détails. Il est en particulier absolument nécessaire que chaque opérateur prépare lui-même sa gamme de taches étalons qu'il y a intérêt à renouveler à chaque changement de réactif.

Quelle que soit la quantité d'arsenic mise en oeuvre (0,1 à 0,01 mg d'arsenic) la bande atteint sensiblement sa longueur maxima en 20 mn. A ce moment la concentration de l'hydrogène arsénié dans l'hydrogène dégagé est maxima. Cependant, le dégagement d'AsH_3 est beaucoup plus prolongé, il concourt manifestement à augmenter l'intensité des taches par son accumulation progressive sur le papier sensibilisé.

Il existe une relation entre les quantités d'arsenic et le débit maximum d'hydrogène.

Contrairement à ce que pensait CRIBIER, une faible proportion (1/3 au maximum) de l'arsenic mis en oeuvre est dégagé au cours du dosage et contribue à la formation de la bande colorée, terme ultime de la technique.

Ce fait constitue une preuve nouvelle de l'extrême sensibilité de la méthode et laisse espérer qu'un procédé du même ordre dans lequel l'arsenic réagirait quantitativement serait susceptible d'accroître encore la sensibilité et surtout la précision au dosage de faibles traces de ce métalloïde".

GRIFFON & BUISSON (135), afin de rendre quantitatif le débit gazeux proposèrent d'éviter le ralentissement du débit gazeux par addition successive de SO_4H_2 au 1/5.

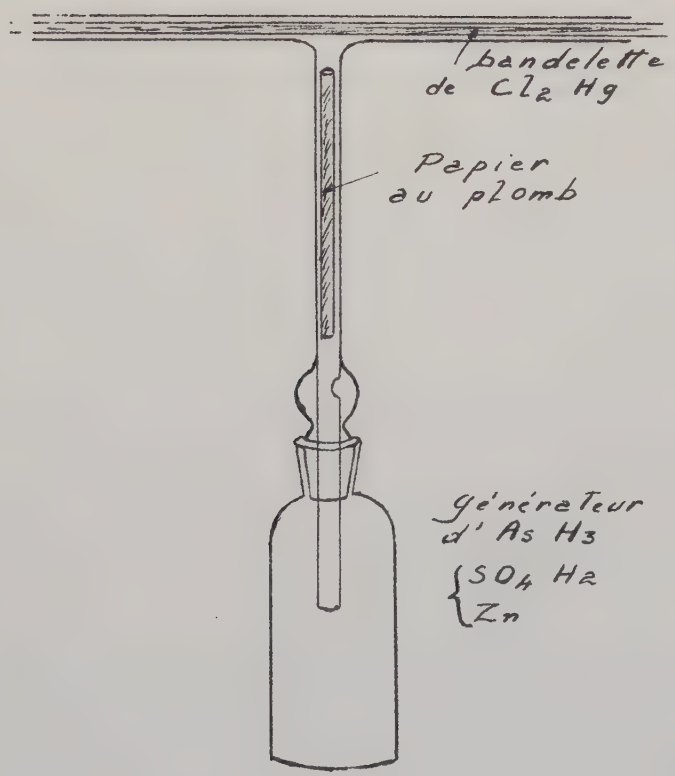
Ils étudièrent le comportement de la méthode de CRIBIER dans les milieux complexes, et se sont occupés de l'influence des sels solubles et insolubles. CRIBIER admet, en effet, qu'il faut éviter lors du dosage de l'arsenic par sa technique, une "trop grande concentration saline, qui diminue très sensiblement la rapidité du dégagement d'hydrogène". BARTHE & MASSY (12) avaient également remarqué l'influence irrégulière mais toujours désastreuse des sels insolubles (sulfate de calcium essentiellement).

De l'expérimentation de GRIFFON & BUISSON, il ressort dès lors que le dosage des traces d'arsenic à l'aide de la technique comparative de CRIBIER aboutit à d'excellents résultats si le métalloïde dosé est en solution pure.

En ce qui concerne l'application directe de la technique aux divers milieux biologiques (urine en particulier), deux possibilités sont à envisager :

- les quantités d'arsenic sont relativement considérables, on peut opérer directement sur une faible prise d'essai dans laquelle les substances minérales sont en quantité trop minime pour perturber

APPAREIL de GRIFFON & BUISSON



la réaction.

- les quantités d'arsenic sont très faibles, la prise d'essai est nécessairement grande, ceci exclut la possibilité de l'emploi direct de la technique de CRIBIER.

GRIFFON & BUISSON proposent dans ce cas, une méthode de dosage des faibles quantités d'arsenic. Elle consiste, après avoir minéralisé convenablement le milieu (urine ou tout autre milieu biologique complexe), à libérer quantitativement le métalloïde sous forme d'hydrogène arsénié, que l'on capte intégralement par barbotage dans un faible volume de solution de MnO_4K et à appliquer la technique de CRIBIER à cette liqueur, dans laquelle l'arsenic se trouve pratiquement en solution pure.

Selon ces deux auteurs, la sensibilité de la technique de CRIBIER ainsi modifiée est de l'ordre de 0,001 mg d'arsenic et sa fidélité très satisfaisante.

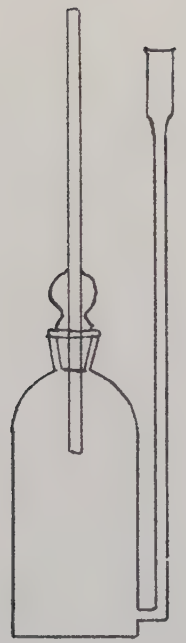
De nombreuses autres modifications ont été proposées entre autres, celle de HOW (153) qui, au lieu d'utiliser un papier réactif, préconise l'emploi de fragments de coton à tricoter uniformément imprégnés d'une solution alcoolique à 5 % de Cl_2Hg et un alliage (Zn + Pb + Sn + Fe).

SNIJDERS & VAN DER DRIFT préfèrent le papier au bromure de mercure (271), CROSSLEY utilise un premier papier à l'acétate de plomb, du coton de verre imprégné également d'acétate de plomb, enfin un papier au bromure de mercure (69).

DENIGES (81) propose un papier trempé dans une solution de HgI_4K_2. MAYRAND (220) obtient l'hydrogène naissant par attaque d'aluminium pur au moyen d'acide chlorhydrique dilué.

JAULMES (164) utilise un appareil de CRIBIER modifié le volume du flacon générateur est de 25 ml seulement. Le tube latéral

APPAREIL de JEAULMES



permet, par addition judicieuse d'acide, de maintenir une acidité optimum au fur et à mesure de sa neutralisation au contact du zinc. La boule contient du coton hydrophile excitateur. Le tube supérieur outre le papier à l'acétate de plomb contient celui au chlorure mercurique d'une largeur de 2 mm seulement (de ce fait la tache arsenicale doit avoir une longueur 2,5 fois plus importante que celle donnée par le CRIBIER classique)(0,1mcg d'As donne une longueur de tache égale à 0,5 mm).

2) - Réactif au citrate d'argent.

- Méthode de TRUFFERT (286)

Cette technique revient à faire agir AsH_3 sur un papier photographique au citrate d'argent. Pour faciliter la comparaison et augmenter la sensibilité, le gaz ne doit être en contact qu'avec la face sensible du papier réactif. Afin d'éliminer les gaz génants (SO_2, SH_2.....) TRUFFERT propose, comme agent de purification, l'emploi d'une solution de potasse et indique les réactions théoriques permettant de les supprimer.

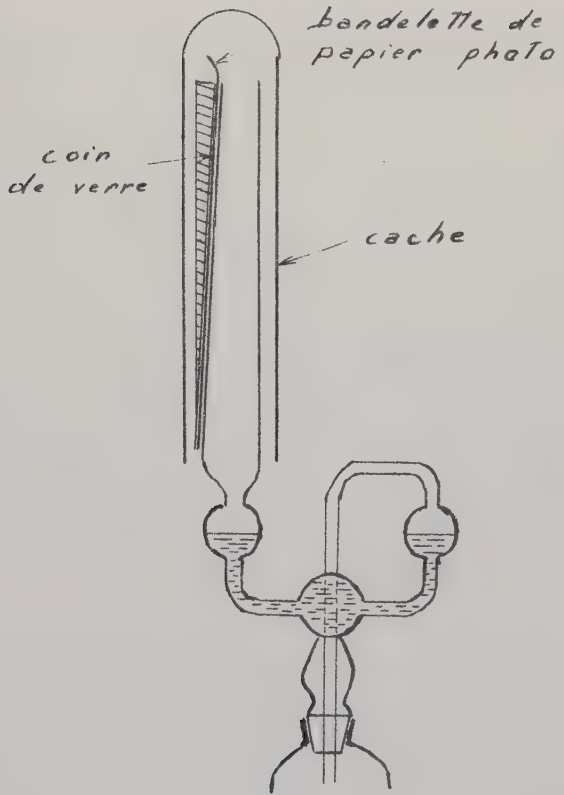
Comme on le voit, TRUFFERT fait appel à des bandelettes de papier photographique à tirage direct (autovireur), maintenues dans un tube formant chambre noire à l'intérieur duquel se trouve un biseau de verre obligeant le gaz à passer seulement sur la face sensible du papier. Les taches obtenues sont très allongées, d'où une grande sensibilité (1/10 de µg).

B - Méthode électrolytique de production de l'hydrogène.

- Méthode de GRIFFON & THURET (138)

Ces auteurs ont indiqué en 1938 une technique de CRIBIER électrolytique. L'AsH_3 produit électrolytiquement arrive au contact d'une bande de papier réactif au bichlorure de mercure. La

APPAREIL de TRUFFERT



production de AsH_3 électrolytique est inspirée de la méthode de THORPE (283).

Les conclusions de l'étude comparative avec la méthode de CRIBIER chimique sont les suivantes :

- le dégagement d'hydrogène est constant dans la méthode électrolytique quelle que soit la quantité d'arsenic mise en oeuvre et plus lent que dans la méthode chimique.

- le dégagement de AsH_3 augmente dès le début de l'électrolyse passe par un maximum au bout de 15 minutes, puis décroit régulièrement sans jamais s'annuler au bout d'une heure.

- comme dans l'hydrogénation chimique, le dégagement de l'arsenic sous forme de AsH_3 n'est pas complet.

- le dégagement d'hydrogène dans la méthode électrolytique n'est pas influencé par les sels quelle que soit leur concentration.

Selon GRIFFON & THURET, cette méthode présenterait donc l'avantage d'être plus générale puisque pouvant s'appliquer à des milieux biologiques, mais la méthode chimique, à condition d'en respecter les moindres détails techniques, n'en est pas moins intéressante en raison de son matériel simple et modeste qui la met à la portée de tous les laboratoires.

L'appareil de FAURE & CASTAGNOU (46) est tel qu'à la sortie de l'électrolyseur, se trouve un robinet à trois voies pouvant diriger le gaz vers deux diverticules élargis : l'un horizontal sur lequel on peut adapter un tube de MARSH classique (voir paragraphe du MARSH électrolytique), l'autre identique, mais vertical à bord rodé. Sur ce rodage à l'air de paraffine fondue, on fixe une plaque de 5x5 cm, elle-même rodée et percée en son centre d'un orifice circulaire de diamètre plus ou moins grand. On y dépose le papier réactif qui y est appliqué par une autre plaque de verre non perforée de 5x5 cm, supportant un poids de 100 gr.

Tout le gaz est donc obligé de traverser le papier avant de se dégager dans l'atmosphère . (Le même principe de papier réactif est d'ailleurs utilisé par VITTE - communication personnelle - à la sortie d'un flacon de dégagement type JEAULMES).

FAURE a étudié cette méthode "CRIBIER electrolytique" et estimé sa sensibilité remarquable. De plus, elle procure dans le cas d'une expertise une excellente pièce à conviction, et semble réunir les avantages de la méthode de CRIBIER et ceux de la production. électrolytique d'hydrogène arsénié.

CHAPITRE 2

METHODES PHYSIQUES

A - Méthodes basées sur la radioactivité provoquée.

L'extrême sensibilité de détection des radiations nucléaires permet de mettre en évidence des masses infinitésimales de corps émetteurs à des taux inaccessibles aux méthodes les plus fines de la toxicologie.

Or, les toxiques minéraux courants ne sont pas radioactifs naturellement, mais on peut les transformer en de telles substances.

Il est classique d'admettre qu'après introduction de composés arsenicaux dans l'organisme, l'arsenic s'intègre à la substance constitutive des cheveux au fur et à mesure de leur croissance. Il en résulte qu'ultérieurement, la recherche de l'arsenic ainsi fixé dans le cheveu présente un grand intérêt pour le diagnostic ou la confirmation d'une intoxication arsenicale.

On a donc cherché à déterminer souvent avec une bonne approximation l'époque ou les époques de l'introduction de l'arsenic en recherchant l'emplacement des portions arsenicales des cheveux par rapport à leur racine et en faisant intervenir la vitesse moyenne de croissance des phanères.

La technique d'analyse par activation (273) fut appliquée en 1951 par GRIFFON & BARBAUD (129 à 132) pour la détection de l'arsenic

dans les cheveux.

Cette méthode est basée sur la transformation de l'arsenic 75 naturel sous l'influence d'un flux de neutrons thermiques en un isotope radioactif : l'arsenic 76 de période 26,8 heures, qui, par émission de rayons β se transforme en sélénium. De tous les éléments dits toxiques, l'arsenic est à poids égal celui qui présente la plus grande aisance à fixer un neutron, mais au cours de l'irradiation, les autres éléments normaux sont également transformés en divers isotopes radioactifs, dont les rayonnements interfèrent ultérieurement avec celui de l'arsenic 76.

Deux techniques sont utilisées pour éliminer ce facteur inadmissible d'erreur. La méthode de MICHON (222) est applicable à tous les organes, celle de GRIFFON & BARBAUD (131 - 132) uniquement aux cheveux.

Méthode de MICHON.

Cette méthode basée sur le principe de l'"activation" s'adresse pour l'isolement de l'arsenic à la technique générale dite "aux entraîneurs". Signalons que pour ce genre de dosage, il est absolument indispensable d'opérer en présence d'un témoin, c'est-à-dire qu'il est nécessaire d'opérer conjointement l'irradiation de l'échantillon d'arsenic à doser, et une quantité connue d'arsenic, car le rendement de l'opération dépend de l'intensité du flux de neutrons et de la durée de l'opération.

De cette manière, on peut opérer un dosage quantitatif en comparant les radioactivités de l'échantillon et du témoin compte-tenu de la concentration en arsenic de ce dernier.

La seule difficulté qui reste à résoudre est d'extraire quantitativement la totalité de l'arsenic présent dans les viscères une fois l'irradiation faite et celui-ci à l'état de pureté absolue.

Or, dans les conditions où la technique par activation est valable, aucun réactif de l'arsenic n'est capable d'isoler quantitativement d'aussi infimes masses.

On tourne donc cette difficulté par la méthode aux entraîneurs. Son principe consiste à ajouter en quantité importante, à la solution ionique à traiter, un autre ion de réactivité très voisine de celui à extraire et de faire agir sur l'ensemble un réactif capable d'insolubiliser les deux ions. L'ion ajouté flocule intensément et adsorbe la totalité de l'ion à extraire. La récupération du floculat total est matériellement très aisée vu sa masse importante, ce qui ne serait pas le cas en l'absence d'adsorbant.

Ceci fait, on élimine le floculat adsorbant par un processus réactionnel convenable et différentiel vis-à-vis de l'ion à doser, soit physique (électrolyse), soit chimique (solubilisation spécifique); et on aboutit ainsi ultimement à l'isolement quantitatif, et à l'état pur de l'ion en cause.

C'est le principe de cette méthode qui est appliquée par MICHON pour l'isolement de l'arsenic "radioactivé" des organes.

Etant donné que l'arsenic irradié sera dosé par des méthodes radioactives, il n'est pas nécessaire d'utiliser un entraîneur à propriétés chimiques voisines, qu'il faudrait ultérieurement séparer. Le meilleur entraineur de l'arsenic radioactif est l'arsenic stable lui-même; son addition massive à l'infime quantité d'arsenic irradié permet, lors des réactions d'isolement de ce dernier, un rendement de 100 % pratiquement, une aisance de manipulation non négligeable, une simplification de la technique générale aux entraineurs.

Le problème à résoudre consiste, après irradiation par les neutrons, à :

- ajouter une dose massive et connue d'arsenic ordinaire,

- à isoler totalement et spécifiquement cet arsenic ajouté (qui entraîne l'arsenic partiellement radioactivé) des autres éléments perturbateurs radioactivés.

- à appliquer à ce "bloc arsenical" la mesure de radioactivité qui, dans ces conditions, est spécifique de l'arsenic préexistant dans les organes, en comparant la valeur de la radioactivité mesurée à celle d'étalons d'arsenic eux-mêmes "radioactivés" dans les mêmes conditions que celles des organes.

La technique opératoire comprendra donc plusieurs temps :

1) l'irradiation d'une part, d'une fraction connue de viscères préalablement desséchés, d'autre part et simultanément, d'une quantité X environ dix milligrammes d'arsenic stable (étalon d'arsenic).

2) la minéralisation des viscères par la méthode nitrosulfurique.

3) l'extraction de l'arsenic irradié des organes, avec l'isolement tout d'abord sous forme de chlorure d'arsenic, puis sous forme d'arsenic réduit.

4) obtention des témoins d'arsenic irradié (2 témoins).

5) mesure des radioactivités.

Technique de GRIFFON & BARBAUD.

Il est classique d'admettre qu'après introduction de composés arsenicaux dans l'organisme, l'arsenic s'intègre à la substance constitutive du cheveu au fur et à mesure de la croissance. Il en résulte qu'ultérieurement, la recherche de l'As ainsi fixé dans le cheveu présente un grand intérêt pour le diagnostic ou la confirmation d'une intoxication arsenicale.

On a donc cherché à déterminer, souvent avec une bonne approximation, l'époque ou les époques de l'introduction de l'arsenic dans l'organisme en recherchant l'emplacement des portions arsenicales des

cheveux par rapport à leur racine et en faisant intervenir la vitesse moyenne de croissance des phanères.

GRIFFON & BARBAUD ont fait connaître en 1951 une méthode utilisable en toxicologie permettant la détection de l'arsenic dans les cheveux par l'étude de la radioactivité de cet élément provoqué "in situ". La technique décrite présentait les caractéristiques originales suivantes : détection d'un élément minéral contenu dans une matière biologique sans destruction, ni dénaturation de celle-ci, reproductibilité des mesures, spécificité, possibilité de localisation de l'arsenic pratiquement continue en fonction de la longueur et partant de la durée de croissance des cheveux.

En outre, l'arsenic normal des cheveux qui compte un élément minéral de constitution, n'est pas susceptible d'être décelé par cette technique qui met seulement en évidence qualitativement l'arsenic anormal.

L'ensemble de ces caractéristiques présente outre leur nouveauté, un avantage certain sur les techniques chimiques et histochimiques utilisées jusqu'alors. Cette méthode est susceptible de servir à l'étude des questions toxicologiques relatives, notamment à la date d'absorption du toxique et à l'évolution de l'imprégnation de l'organisme par celui-ci dans les empoisonnements arsenicaux.

La mèche de cheveux, convenablement lavée, (bulbes d'un côté, pointe de l'autre) est irradiée par un flux de neutrons thermiques dans une pile comparativement à une pellicule d'arsenic normal déposé sur une réglette semblable à celle qui sert de support à la mèche de cheveux. La radioactivité est déterminée au compteur Geiger Muller, tout au long de la mèche de cheveux par fractions successives de 4 mm de longueur à travers une fenêtre pratiquée dans une lame de plomb.

Cette mesure est effectuée à la sortie de la pile, puis

26,8 heures après (période de l'As 76). Les résultats sont donnés, sous forme de courbes, les abscisses représentent la longueur des cheveux, les ordonnées l'intensité des radiations mesurées par unité de temps.

Les cheveux normaux donnent une droite nettement inclinée sur l'axe des abscisses. Cette allure en droite montre que la composition chimique est homogène tout au long du cheveu, son inclinaison est due à la perte de masse normale du bulbe à la pointe et surtout à la durée des mesures qui séparent les divers comptages partiels entre le bulbe et la pointe.

Les cheveux à imprégnation arsenicale hétérogène donnent sur le fond de la droite précédente un ou plusieurs clochers.

Si le clocher est uniquement dû à l'arsenic (et non à certains éléments normaux ou pathologiques pouvant interférer dans les mesures) la radioactivité doit diminuer de 50 % entre la mesure à la sortie de la pile et celle 26,8 heures après.

La méthode de GRIFFON & BARBAUD, telle qu'elle vient d'être présentée, a fait l'objet de nombreuses critiques. En particulier, on a mis en avant qu'à l'époque de leurs expériences, leur appareillage ne comportait pas de spectromètre et que par conséquent toute différenciation portant sur l'énergie des rayonnements γ émis était impossible. Hors dans le cheveu, il existe de nombreux éléments qui, par activation, peuvent présenter des périodes voisines de celle de l'arsenic 76.

C'est pour cette raison qu'il nous a toujours semblé légitime d'admettre que la méthode de MICHON qui comportait une séparation après irradiation lui était préférable.

A l'heure actuelle, même sans séparation chimique, les ressources de la spectrométrie γ (et en particulier celle des multicanaux) sont telles qu'il est possible d'identifier, directement après

irradiation du cheveu l'arsenic 76, dont la présence et la concentration peuvent également être confirmées par l'étude de son émission β.

Il semble bien que JOLIOT-CURIE, puis SAVEL aient entièrement résolu ce problème, mais à notre connaissance, leurs travaux n'ont donné lieu à aucune publication.(168).

- La période est déterminée par mesure de la perte de l'activité journalière, elle devra être de l'ordre de 27 heures, mais ceci ne suffit pas, car un mélange $Na_{24}P_{32}$ donne pour un certain pourcentage relatif une période analogue.

L'énergie du rayonnement est calculée par mesure de l'activité d'émission corpusculaire à travers des écrans d'aluminium. Les résultats obtenus sont comparés à ceux des étalons irradiés conjointement.

De plus, on déterminera par spectrométrie γ, le spectre d'émission de la mèche (raie à 0,56 MeV).

Enfin, le spectre β sera mesuré après interposition d'un écran d'aluminium à 150 mg/cm^2.

Toutes ces mesures effectuées au point où la mèche de cheveu présente un clocher d'émission corpusculaire sont strictement nécessaire pour pouvoir affirmer qu'il s'agit bien d'une imprégnation arsenicale.

Depuis GRIFFON, de nombreux auteurs ont entrepris des expériences similaires : DEWAR & LENIHAN (83), HAYNDRICK & SCHANVLIEGE (9), LENIHAN & SMITH (192), SMITH (269). D'ailleurs, certains n'ont pas travaillé sur le cheveu, mais ont cherché à déterminer spécifiquement l'arsenic présent dans les os : KOHN-ABREST (182 - 183), LICHON (9), ou dans les dents : GOETTE & HATTEMER (125). Alors que SMALE & PATE (266 à 268), DALE (72) envisageaient la fixation de l'arsenic par les différents tissus et même procédaient par cette technique au dosage de l'arsenic dans l'eau de mer.

La sensibilité de la méthode est de l'ordre de 10^{-10}g, sensibilité qui n'a été atteinte jusqu'à présent par aucune autre méthode.

B - Polarographie.

L'étude du courant d'électrolyse qui traverse, sous des potentiels croissants, une cellule renfermant des substances réductibles ou oxydables, en présence d'électrodes convenablement choisies, l'une polarisée, l'autre non polarisée permet d'une part leur caractérisation grâce à la mesure du potentiel pour lequel se produit un accroissement brusque d'intensité (vague) et d'autre part, l'évaluation de leur concentration par la détermination de l'accroissement de cette intensité (hauteur de vague); c'est là le principe de la polarographie préconisé pour la première fois par le savant Tchèque HEYROVSKY, en 1924, et qui est devenue l'une des techniques modernes d'analyse la plus en faveur (145 à 151). Cette méthode très générale a déjà rendu les plus grands services en permettant le dosage dans les milieux biologiques de certains éléments toxiques, le plomb par exemple, à condition de se placer dans des conditions bien définies. Elle a été appliquée à la recherche analytique de l'arsenic par BAYERLE (13), KACIRKOVA (170), LINGANE (205 à 208), KOLTHOFF (185), plus récemment par LEPEINTRE & OLIVIER à l'occasion d'une étude sur les eaux thermales de la Bourboule.

CRISTAU en 1958 (68) a étudié la valeur des dosages polarographiques de l'arsenic. Cette technique nécessitait un certain nombre de conditions acquises.

- L'arsenic doit être isolé du milieu de destruction de la matière organique d'une part pour éliminer les ions génants (fer, plomb) d'autre part, pour réaliser la concentration du toxique sous un volume de liquide aussi petit que possible. En général, on réduit l'arsenic par un courant d'hydrogène sous forme d'hydrogène arsénié.

- Il est indispensable d'opérer sur des solutions d'arsenic

amené à la valence + 3, les solutions d'arsenic pentavalent n'étant pas réductibles par polarographie.

En milieu chlorhydrique, les solutions d'acide arsénieux fournissent deux vagues caractéristiques qui ont été étudiées par de nombreux auteurs (139 - 189 - 195 - 196 - 230).

Aux faibles concentrations, OLIVIER (230) a pu montrer que l'intensité du courant de diffusion de la première vague était linéairement proportionnelle à la concentration.

- De plus, l'arsenic trivalent, à faibles concentrations est oxydable à l'air, ce qui peut entraîner des erreurs par défaut.

HAIGHT (142) a décrit une microméthode qui peut se résumer ainsi : l'hydrogène arsénié entraîné par un courant d'hydrogène réagit sur un gel de silice imprégné de nitrate d'argent. Il y a formation d'argent réduit et d'acide arsénieux. Le gel est ensuite traité par une solution chlorhydrique d'acide tartrique, qui extrait quantitativement l'acide arsénieux et précipite l'excès d'ion argent.

Dans ces conditions, on obtient par polarographie deux vagues, la première très régulière ne présentant jamais de maximum et dont le potentiel de demi-palier est égal à -0,403 V., la seconde, plus courte débutant brusquement à 0,668 V.et présentant des maxima difficilement réductibles. L'ensemble du tracé est très caractéristique : l'identification du toxique est donc parfaite et il ne peut y avoir confusion avec un autre hydrure.

Les quantités dosées sont comprises entre 82 et 750 µg.

La modification la plus importante de CRISTAU consiste à remplacer le gel de silice par un papier imprégné de nitrate d'argent. En effet, l'épuisement du gel produit une dilution du toxique et fait perdre à la méthode une grande partie de sa sensibilité. Or, à l'aide de microcellules, il est possible de tracer des polarogrammes avec moins

de 1 ml. Il y a donc intérêt à rassembler le toxique sous un volume aussi réduit que possible. Le dépôt d'arsenic sur le papier au nitrate d'argent se traduit par l'apparition d'une tache qu'il est très facile de découper aux ciseaux. La tache est ensuite épuisée par de l'acide (1 à 10 ml). La méthode présente alors toute la sensibilité désirable pour les besoins de la toxicologie. Il suffit d'éliminer les ions argent par refroidissement dans la glande fondante, afin que la seconde vague d'arsenic soit visible.

Le polarogramme tracé d'après cette solution est très caractéristique, l'antimoine n'interfère pas. La méthode selon CRISTAU est très spécifique, sensible (fraction de microgramme) et précise.

Une telle méthode peut être appliquée aux anneaux d'arsenic obtenus dans l'appareil de MARSH, après transformation en acide arsénique par oxydation nitrique, suivie d'une évaporation à sec et d'une reprise par l'acide chlorhydrique normal avec réduction ultérieure.

Plus récemment, GOUEZO (1960) (127) a mis au point une méthode permettant d'identifier sans erreur possible l'arsenic, et ne laissant la place à aucune confusion avec l'antimoine.

- La première technique réalisant préalablement à la distillation de l'hydrure, l'isolement du toxique à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien est rigoureusement spécifique de l'arsenic, l'antimoine ne précipite pas.

- La seconde permet d'obtenir sur un même diagramme l'empreinte des deux toxiques côte à côte : précédant les vagues fournies par la réduction du composé arsénieux se trouve celle de l'antimoine. Ce procédé permet d'arriver à un tel résultat grâce à l'extraction simultanée des deux métalloïdes à l'état de xanthates.

La précision de la première méthode est très satisfaisante. Elle permet de retrouver en moyenne 91 % de l'arsenic présent dans les

milieux biologiques analysés. Celle de la seconde est légèrement inférieure, 88 %.

C - Fluorescence aux rayons X.

En 1964, SENTENAC - ROUMANOU (265) a étudié le phénomène de fuuorescence aux rayons X appliqué au dosage de l'arsenic et du baryum.

Différents problèmes se posent lors du dosage d'un corps par fluorescence :

- le choix de l'anti-cathode est un point important car il conditionne la fluorescence du corps à doser. La raie la plus importante pour l'arsenic est la raie $K_{\alpha}1$ de longueur d'onde 1,1774 Å . BIRKS (28) a montré que l'on avait intérêt à choisir la raie K d'un élément de longueur d'onde inférieure à 0,2 Å par rapport à la raie de l'élément à doser donc la raie K de l'anode devra avoir environ 0,9 Å . SENTENAC - ROUMANOU a choisi une anti-cathode en molybdène dont la raie (K = 0,712 Å) se rapproche le plus de cette valeur. Il a pratiqué un enregistrement des raies. Cet auteur a ensuite effectué un spectre de fluorescence de l'arsenic et déterminé le voltage maximum qu'il faut appliquer à l'anti-cathode de molybdène pour permettre une excitation maximum de la fluorescence de l'arsenic.

Ensuite, l'auteur a étudié le rapport raie sur fond continu optimum.

Il est également nécessaire de déterminer le compteur à utiliser. Pour K_{α} de l'arsenic de λ 1,17 Å , le compteur proportionnel a un rendement de 50 % environ. Il est cependant préférable d'utiliser un compteur à scintillation qui pour cette λ possède un rendement de 95 % environ.

Enfin, il est important d'utiliser un cristal analyseur convenable SENTENAC - ROUMANOU a employé un cristal FLI (d = 2,01 Å).

Dans de telles conditions expérimentales, cet auteur est arrivé aux conclusions suivantes : l'arsenic peut être dosé grâce à sa raie K_α par fluorescence jusqu'à une concentration de 75 mg / litre avec une précision relativement bonne.

Au-dessous la précision est nulle et on ne peut plus parler de dosage, mais de détection. En ce qui concerne cette détection, la limite se situe vraisemblablement, d'après SENTENAC - ROUMANOU entre 3,7 et 7,5 mg / litre.

La sensibilité de la méthode est donc bien faible.

Mais à l'heure actuelle, de nombreux perfectionnements tels que l'emploi de la stabilisation du compteur à flux gazeux, du canal à vide sont venus apporter la preuve que le dosage des éléments par fluorescence aux rayons X était encore bien loin d'avoir atteint son rendement optimal.

DEUXIEME PARTIE

DOSAGES de l'ARSENIC, en PRESENCE de ^{74}As.

- - - -

En 1920, d'après les travaux de ASTON (6 - 7 - 8), on pouvait admettre que l'arsenic était constitué par l'unique isotope de nombre de masse 75.

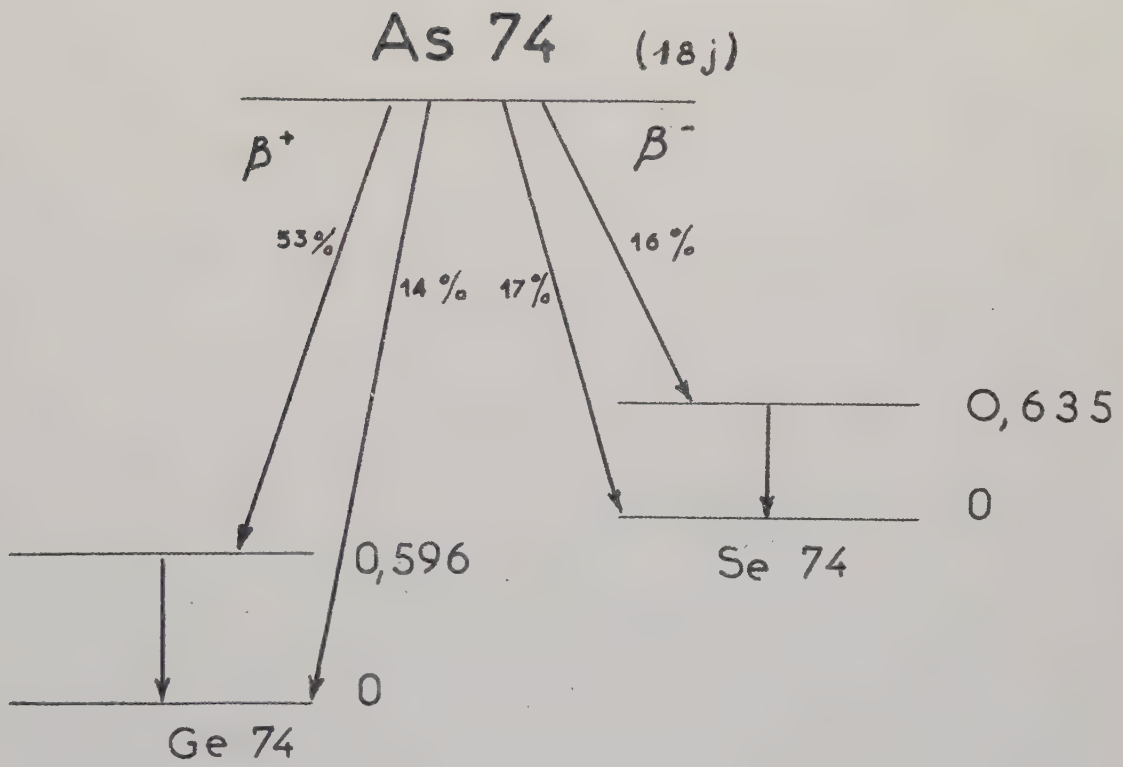
Mais quelques années plus tard, ce même auteur , et simultanément NIER (228) montrait qu'il existait d'autres isotopes stables de l'arsenic.

Ce n'est cependant qu'en 1940 que REBOUL (245) reconnaissait la radioactivité naturelle de l'arsenic par action sur la plaque photographique. Et les travaux modernes ont permis de reconnaître ces dernières années de nombreux isotopes radioactifs de l'arsenic. Leur période est très variable et s'étage entre 15' et 76 jours. Ce sont des émetteurs $\beta+$ ou $\beta-$.

Comme nous l'avons vu, l'arsenic 76, a été utilisé par MICHON, GRIFFON & BARBAUD qui l'ont obtenu par irradiation avec des neutrons thermiques, et qui ont pu ainsi mettre au point un procédé de dosage de l'arsenic dans les liquides biologiques ou les cheveux, par la méthode de radioactivation, sa période de 26,4 heures ne nous a cependant pas paru suffisante pour faire une expérimentation valable concernant les différentes méthodes analytiques décrites, et nous avons préféré employer l'arsenic 74, de période 17,5 jours, émetteur $\beta+$ et $\beta-$, dont le schéma de désintégration peut se représenter de la manière suivante :

SCHEMA de DESINTEGRATION

de l'ARSENIC 74



Il nous avait, en effet, paru intéressant d'étudier le rendement des différentes techniques préconisées pour le dosage de l'arsenic au moyen de ^{74}As.

Vu le nombre de techniques, notre choix s'est restreint aux techniques classiques, MARSH, CRIBIER et CORDEBARD, et à quelques-unes de leurs variantes.

CHAPITRE 1

DOSAGE de l'ARSENIC par la METHODE de MARSH en PRESENCE de ^{74}As.

- - - - - -

Comme nous l'avons vu précédemment à l'occasion de la description de l'appareil de MARSH, modifié par KOHN-ABREST, le chauffage de l'hydrogène arsénié en présence d'excès d'hydrogène, qui l'entraîne provoque la libération de l'arsenic à l'état métalloïdique et son dépôt en aval du point de chauffe, sur la paroi intérieure, relativement froide, du tube capillaire où circule le fluide.

Tous les expérimentateurs depuis MARSH ont attiré l'attention sur l'absolue nécessité de procéder à l'opération dite de la "purge d'air" de l'appareil, c'est-à-dire à l'élimination parfaite des moindres traces d'air dont la présence pourrait avoir le double inconvénient de provoquer l'explosion de l'appareil, ou de reoxyder une partie de l'arsenic transitoirement libéré. Le mélange gazeux doit être, en outre, débarrassé aussi complètement que possible de l'humidité. Pour cela, on interpose dans le circuit un tampon de coton hydrophile préalablement desséché.

La pyrolyse doit de plus être évidemment totale. Les dispositifs classiques (modèle Académie des Sciences, Gabriel Bertrand) utilisent le chauffage par le gaz au moyen d'une rampe. Mais il est plus intéressant de chauffer électriquement, car la température est plus facilement réglable. (rhéostat).

La détermination quantitative de l'arsenic libéré dans de telles conditions s'effectue le plus souvent par appréciation visuelle de la taille de la tache déposée. Il convient pour obtenir le maximum de visibilité du dépôt, que celui-ci soit provoqué sur une faible longueur et intégralement. Il y a donc lieu de choisir au mieux, non seulement le mode de chauffage et de réfrigération, mais encore le diamètre interne du tube à analyse selon JAULMES (84), ce dernier doit être de :

5 mm pour une sensibilité allant de 0,005 mg à 1 mg.
3 mm pour une sensibilité allant de 0,003 mg à 0,3 mg.
1 mm pour une sensibilité allant de 0,001 mg à 0,05 mg.

Et enfin, afin de tester les différents réactifs mis en jeu, il est indispensable de faire un essai préliminaire à blanc.

Ayant tenu compte de tous ces points, nous avons effectué, les conditions expérimentales étant rigoureusement constantes, des dosages d'arsenic 75, en présence d'arsenic 74, afin d'obtenir un bilan complet de l'appareil de MARSH, type KOHN-ABREST.

Les seules variables ont été lors de l'expérimentation, la dose d'arsenic 75 mise en jeu, et la durée de chauffe qui s'est étagée entre 4 et 18 heures.

L'ensemble de l'appareil est placé dans une enceinte en plexiglass pratiquement étanche. L'air en est aspiré, à travers plusieurs barboteurs au nitrate d'argent au moyen d'une trompe à eau, au niveau d'un orifice muni d'un filtre en papier Whatman imprégné au chlorure mercurique (selon la technique de J. CRIBIER).

L'arsenic 74, qui a servi à établir le bilan de la réaction, a été introduit simultanément avec l'arsenic stable, une dose constante de 10 μc a été employée, elle représente dans nos conditions de comptage (compteur puits HARSHAW de 2 pouces, spectrométrie γ), une radioactivité

de 100 000 impulsions/minute en moyenne.

Le bilan a été établi de la manière suivante, de façon à avoir une géométrie constante dans le puits :

- comptage des 10 µc d'arsenic 74 dans un volume de 5 ml.
- comptage de 3 échantillons de 5 ml du liquide d'hydrogénation après arrêt de la réaction.
- comptage de 3 échantillons de 5 ml de NO_3Ag à la fin de l'opération.
- comptage de la totalité de l'acide nitrique ayant servi à solubiliser l'anneau, par fraction de 5 ml.
- comptage de divers liquides de lavage de l'appareil : eau distillée, hypobromite de soude, mélange sulfo-chromique, toujours par fraction de 5 ml.

De cette manière, il était possible, connaissant la radioactivité mise en jeu au départ et la somme des radioactivités trouvées dans les divers prélèvements en fin de réaction, d'établir le bilan de l'opération.

Nos résultats sont groupés dans le tableau 1.

L'examen de ce tableau montre que la méthode de MARSH, qui est actuellement la méthode de référence des toxicologues, est bien loin de posséder un rendement satisfaisant, puisque dans les meilleures conditions, on arrive à 64 % et dans les plus mauvaises à 45 % environ.

On peut dire volontiers, qu'il s'agit là d'une méthode comparative, et qu'il est toujours effectué deux déterminations l'une sur un témoin de concentration connue, l'autre sur la prise d'essai. On nous permettra cependant d'objecter que certains paramètres sont incontrôlables et que l'on ne peut être sûr d'une variation identique de ceux-ci lors de deux expériences successives. En effet, les concentrations radioactives mesurées au niveau de la verrerie et dans l'air

TABLEAU 1

DOSAGE de l'ARSENIC selon la TECHNIQUE de MARSH en PRESENCE de ^{74}As.

As stable doses en µg	RADIOACTIVITE en Impulsions/minute.							
	Départ	Anneau	NO_3Ag	Liquide d'hydrogénation Résidu	Zinc Résidu	Coton	Verrerie et air ambiant	Rendement %
25	29.800	13.500	290	3.100	370	50	12.000	45,0
25	90.500	61.600	3.200	6.500	5.630	350	13.200	68,0
20	105.000	57.450	2.800	4.200	480	420	40.000	54,7
12,5	36.000	19.500	520	6.250	2.200	50	7.000	54,1
12,5	85.000	51.300	3.500	2.800	5.000	330	23.000	60,3
12,5	99.000	74.700	3.850	11.000	450	280	10.000	75,4
10	85.000	42.000	7.000	5.100	11.700	270	18.000	49,4
10	105.000	50.000	2.900	17.600	5.100	310	30.000	47,6

ambiant sont très variables ; on constate, en outre, au niveau du liquide d'hydrogénation, tout comme au niveau du zinc, l'existence d'un résidu radioactif important. De plus, les pertes d'arsenic, dans l'expérience, ne sont pas négligeables, puisque souvent on retrouve une radioactivité notable au niveau du barboteur au nitrate d'argent.

Sans être trop pessimiste, on peut conclure que la méthode de MARSH, du moins avec les modalités expérimentales que nous avons utilisées (Appareil de KOHN-ABREST) permet seulement d'obtenir une appréciation semi-quantitative de l'arsenic présent dans une liqueur ou un liquide d'extraction de concentration inconnue.

CHAPITRE 2

DOSAGE de l'ARSENIC par la METHODE de CRIBIER en PRESENCE de ^{74}As.

- - - - -

La méthode de CRIBIER (64) repose en principe sur la production par l'hydrogène arsénié d'une coloration jaune, plus ou moins brune, sur un papier imprégné de bichlorure de mercure. Cette réaction est très sensible. Cette technique proposée par MAYENÇON & BERGERET en 1874 (219) a été ensuite appliquée et adoptée par un grand nombre de savants et de pharmacopées.

Elle a rendu les plus grands services aux toxicologues pour doser rapidement l'arsenic. Cette méthode a fait, depuis sa publication l'objet de nombreuses études, en particulier de la part de DELEPINE & LEONARDON (194), GRIFFON & BUISSON (134 - 135), CASTAGNOU (44 à 48), TRUFFERT (286), JAULMES (158 à 166) etc... qui ont permis d'en préciser les modalités d'application.

On sait que cette méthode essentiellement comparative exige une identité rigoureuse dans les détails de l'opération, tant pour les essais que pour l'établissement de la gamme étalon.

Malgré les réserves faites par GRIFFON & BUISSON, la méthode de CRIBIER est une méthode classique de dosage de l'arsenic et elle a semblé donner, si on prend toutes les précautions qu'elle nécessite, entière satisfaction pour le dosage de quantités d'arsenic comprises entre 5 µg et 100 µg.

Faisant des "CRIBIER" de routine et bien qu'utitisant toujours le même protocole expérimental et les mêmes précautions opéra-

toires, M. le Professeur BOURBON a constaté que cette technique n'était pas d'une fidélité parfaite dans la détermination de très faibles quantités d'arsenic, voisines du µg.

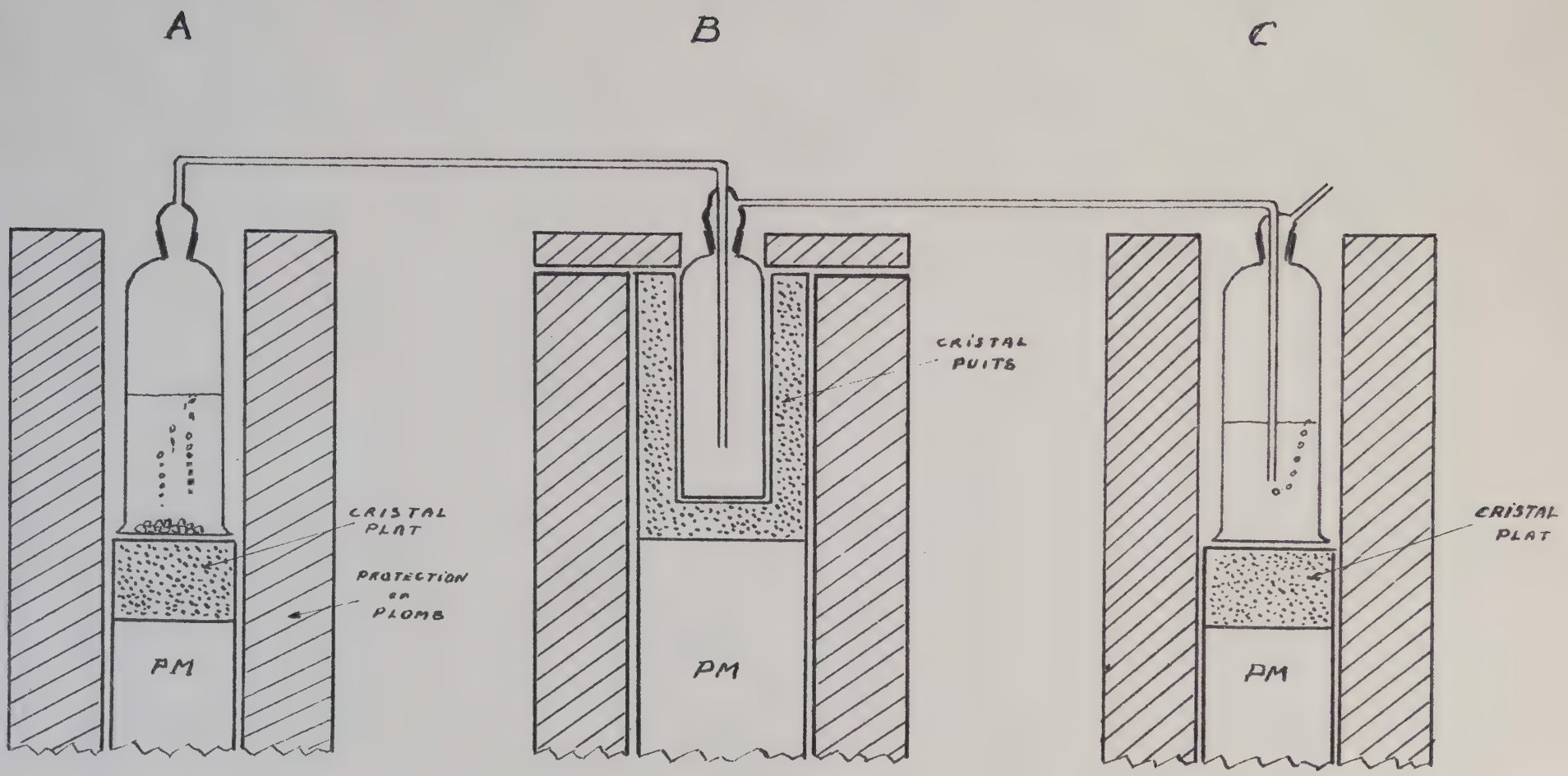
C'est la raison pour laquelle, sur sa suggestion, nous avons envisagé d'étudier les différents temps de la technique de CRIBIER en utilisant pour nos déterminations, conjointement l'arsenic stable et son isotope radioactif : ^{74}As. Cet isotope est un émetteur β, γ de période 17,5 jours. Il était ainsi possible d'étudier le devenir de l'AsH_3 par une simple mesure de radioactivité (cristal puits HARSHAW, 2 pouces).

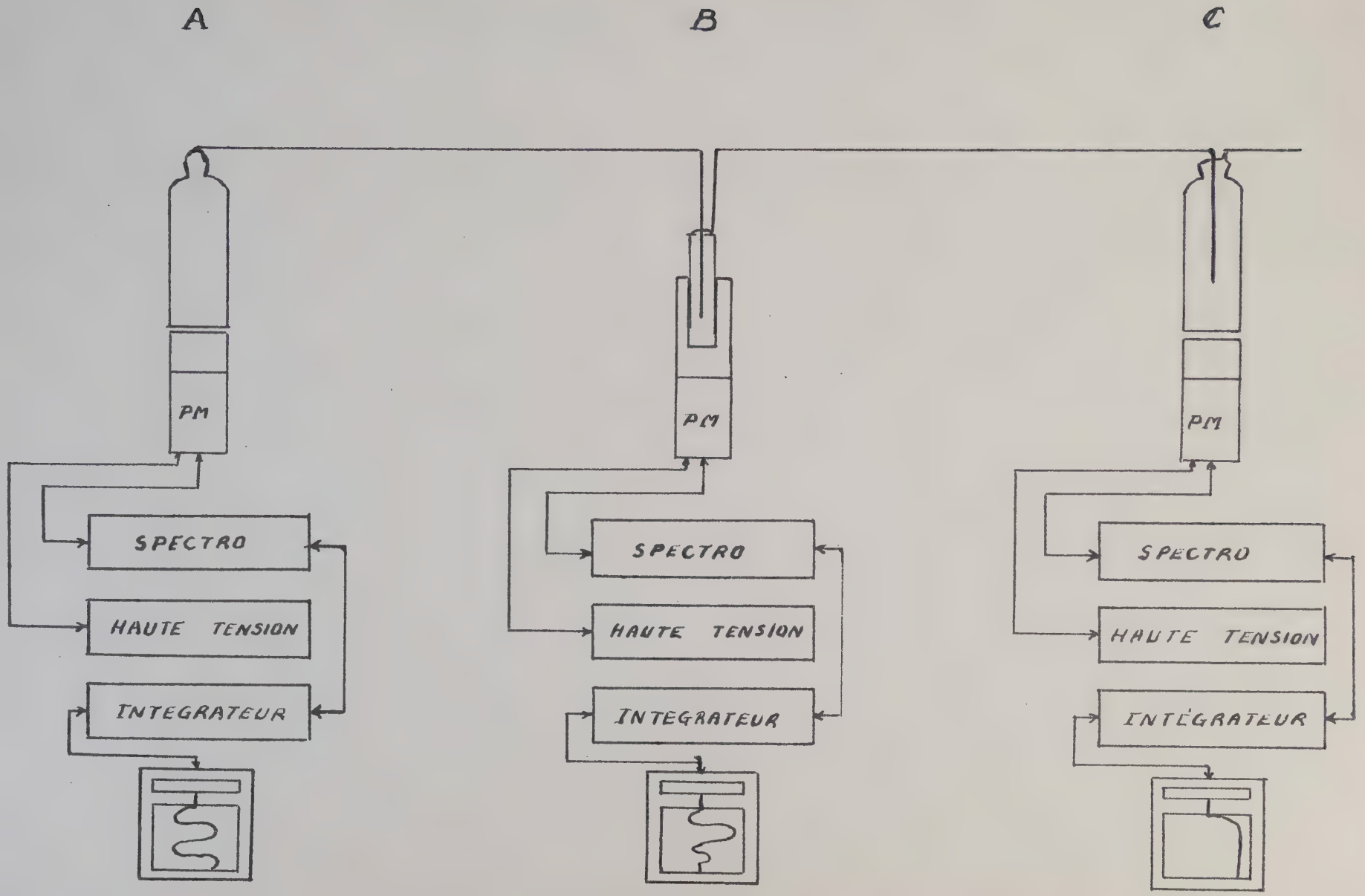
Pour l'étude du rendement de la méthode de CRIBIER, nous avons successivement envisagé l'étude du dégagement de AsH_3, sa fixation sur le papier au bichlorure de mercure, et le rôle du papier à l'acétate de plomb.

I - Etude du dégagement de AsH_3

Nous avons pour cette première série d'expériences, utilisé un appareil de CRIBIER, modifié de la manière suivante :

Le dégagement se fait dans un générateur à hydrogène, classique ("A"),(CRIBIER standard), le gaz formé (H_2 + AsH_3) est dirigé, par un tube coudé à rodage, sur un tube de verre ("B") qui pénètre très exactement dans le puits d'un cristal HARSHAW de 2 pouces. On peut suivre ainsi le dégagement gazeux à tout instant en détectant la radioactivité au moyen d'un ensemble de comptage TRACERLAB solidaire d'un intégrateur et d'un enregistreur permettant de suivre le phénomène dans le temps. Enfin, l'AsH_3 dégagé est finalement capté dans un barboteur ("C") contenant du nitrate d'argent où il est totalement oxydé par ce dernier.


A
B
C
CRISTAL PLAT
PROTECTION en PLOMB
PM
CRISTAL PUITS
PM
CRISTAL PLAT
PM


A
B
C
PM
PM
PM
SPECTRO
SPECTRO
SPECTRO
HAUTE TENSION
HAUTE TENSION
HAUTE TENSION
INTEGRATEUR
INTEGRATEUR
INTÉGRATEUR

Nous avons répété l'expérience avec différentes doses d'arsenic stable : 1, 2, 5, 10 µg entre autres. Pour chaque essai, nous avons mis successivement dans le flacon à dégagement :

- la solution d'arsenic stable.
- 1 ml d'une solution de As^{74} représentant 10 microcuries.
- 8 ml de SO_4H_2 pour toxicologie.
- de l'eau distillée en quantité suffisante pour amener le volume à 75 ml.

L'ensemble est refroidi dans un mélange d'eau et de glace. Lorsque la température est au voisinage de 0°C, on ajoute 8 gr de zinc pour toxicologie (la moitié sous forme de zinc pur, l'autre sous forme de zinc platiné).

Le flacon de l'appareil de CRIBIER bouché, on laisse le dégagement s'effectuer pendant au moins 12 heures à l'obscurité.

Dans notre dispositif expérimental, la radioactivité a été déterminée et enregistrée conjointement au niveau du point "A" (flacon de CRIBIER), du point"B"(tube de dégagement) et du point "C" (barboteur au nitrate d'argent).

Les concordances entre les différents ensembles et les différentes géométries ont été rigoureusement établies par étalonnage préalable.

Il résulte des enregistrements obtenus que le dégagement de AsH_3 (mesuré en B) est pratiquement immédiat et régulier pendant les 6 à 8 premières heures. Au bout de ce temps, il s'est dégagé environ 30 % de la quantité d'arsenic sous forme de AsH_3. Nous retrouvons ici les résultats énoncés par GRIFFON & Coll. dès 1933. Après 8 heures, le débit est beaucoup plus lent, et au bout de 24 heures la totalité d'arsenic 74 est loin d'être dégagée. Le résidu total est encore de l'ordre de 40 % au niveau du flacon "A". Il est d'ailleurs possible,

comme l'a préconisé JAULMES (164) de réamorcer le dégagement de AsH_3 par addition d'une petite quantité d'acide sulfurique dans le flacon de dégagement.

En résumé, le dégagement d'AsH_3 se révèle pratiquement instantané puisque la radioactivité est immédiatement décelable dans le tube "B", elle augmente rapidement dans les premières minutes, sa valeur se stabilise pendant 5 à 6 heures, il existe un léger dôme sur la courbe, puis elle redescend lentement.

Le tableau 2 indique les résultats de comptage effectués au niveau du flacon "A", au temps zéro de l'expérience, puis au bout de 12 heures dans les mêmes conditions rigoureuses de géométrie, pour quelques unes de nos expérimentations.

Le fait que la libération totale de l'arsenic n'est pas obtenue, entraîne la conclusion que toutes les méthodes basées ou dérivées de la méthode de CRIBIER ne peuvent qu'être comparatives. De plus, il y a obligation absolue d'opérer dans des conditions identiques pour les solutions à analyser et pour la gamme témoin.

Comme l'avait signalé GRIFFON & BUISSON (133 à 135), THURET (289 - 290), tout se passe comme si l'arsenic en solution était entraîné par suite du barbotage dans un courant d'hydrogène de débit constant sous une forme volatile. Les lois de cet entraînement ont d'ailleurs été étudiées quantitativement par JAULMES & RIVEMALE (165). Ces auteurs ont ainsi pu déterminer les valeurs numériques qu'il faut adopter pour prévoir le rythme de ce passage : aqueux-gazeux.

$$K = \frac{(As \text{ dans } H_2)}{(As \text{ dans le liquide})}$$

Le coefficient K doit être constant et indépendant au cours du dégagement de la concentration d'arsenic et du volume de la solution arsenicale. Ils ont établi le coefficient de passage de l'arsenic de manière théorique.

TABLEAU 2

RADIOACTIVITE du LIQUIDE d'HYDROGENATION		
Doses d'Arsenic	Départ	Résidu au bout de 12 heures.
100 µg As stable + 10 µc As 74	120.000 imp/mn	80.000 imp/mn
10 µg As stable + 10 µc As 74	115.000 imp/mn	76.000 imp/mn
1 µg As stable + 10 µc As 74	130.000 imp/mn	83.000 imp/mn
1 µg As stable + 5 µc As 74	68.000 imp/mn	47.000 imp/mn

$$K = 2{,}303 \frac{M}{N} \log. \frac{A}{A - Y}$$

avec A = concentration d'arsenic dans le liquide de départ.

M = volume de la solution.

N = volume d'hydrogène dégagé.

Y = quantité d'arsenic entraîné sous forme de AsH_3.

L'expérience a montré que K = 0,07 avec l'arsenic trivalent et 0,04 avec le pentavalent.

En fait, les travaux de JAULMES & Coll. aboutissent à la conclusion pratique suivante : si l'on veut extraire 99 % de l'arsenic, il faut que le volume d'hydrogène dégagé soit égal à 66 fois le volume de la solution mise en oeuvre dans le cas de l'arsenic trivalent, et à 115 fois si c'est du pentavalent. En réalité, ces volumes sont loin d'être atteints par les techniques classiques.

Nous avons entrepris de vérifier les conclusions théoriques de JAULMES au moyen d'un appareil identique à celui qu'il a décrit et en adoptant sa méthode, qui consiste à ajouter périodiquement du zinc et de l'acide sulfurique en petites quantités.

Nous avons ainsi pu déterminer, au moyen de solutions arsenicales marquées, le rendement de la réaction qui s'est trouvée être dans les cinq meilleures expériences de 88,88, 92, 93 et 95 %. Ces résultats expérimentaux nous paraissent cependant excellents, si l'on veut bien considérer les autres causes d'incertitude de la méthode, en particulier, la qualité du zinc.

II - Fidélité de la Méthode de CRIBIER pour de faibles doses d'arsenic.

Pour cette série d'essais, nous avons utilisé l'appareil de CRIBIER classique à tube de dégagement droit, nous avons opéré avec le

même protocole qu'au paragraphe précédent, en ayant soin d'introduire successivement et suivant la même géométrie dans le tube droit :

- un papier à l'acétate de plomb (rectangle de papier Whatman n° 1 de 40/100 mm, immergé pendant 10 minutes dans une solution aqueuse d'acétate de plomb à 10 %, puis séché d'abord entre deux feuilles de papier filtre, enfin à l'air pendant 24 heures.)

- un papier au chlorure mercurique (constitué par une languette de papier Whatman n° 1 de largeur égale au diamètre interne du tube de CRIBIER, (en général 5 mm X 250 mm), préalablement plongée dans une solution aqueuse froide de Cl_2Hg à 5 % pendant 10 minutes, puis séchée à l'obscurité pendant au moins 24 heures.

Nous avons pratiqué plusieurs dosages avec 1 - 2 - 5 - 10 µg d'arsenic etc..., chaque dosage étant fait en trois exemplaires, chaque fois dans les mêmes conditions ambiantes.

Au bout de 12 heures, l'expérience a été arrêtée et le papier au chlorure mercurique compté au cristal puits, après l'avoir découpé de bas en haut en fines bandelettes d'égale hauteur.

On constate que la radioactivité est fixée sur la partie inférieure du papier réactif, dans les deux premiers centimètres environ.

Quelques exemples de nos résultats sont consignés dans les tableaux 3 et 4.

On peut constater que si l'on établit la courbe des radioactivités détectées sur le papier, on n'a nullement la droite à laquelle normalement on doit s'attendre si le rendement de l'opération est constant et la concentration d'AsH_3 dégagé proportionnelle à la concentration d'arsenic dans le milieu considéré (schéma ci-contre).

On voit que les écarts sont souvent importants et les résultats nullement cohérents, alors que nous avions pu nous rendre compte du contraire (le dégagement de AsH_3 était constant).

TABLEAU 3

RADIOACTIVITE du PAPIER au Cl_2Hg en Impulsions/minute.

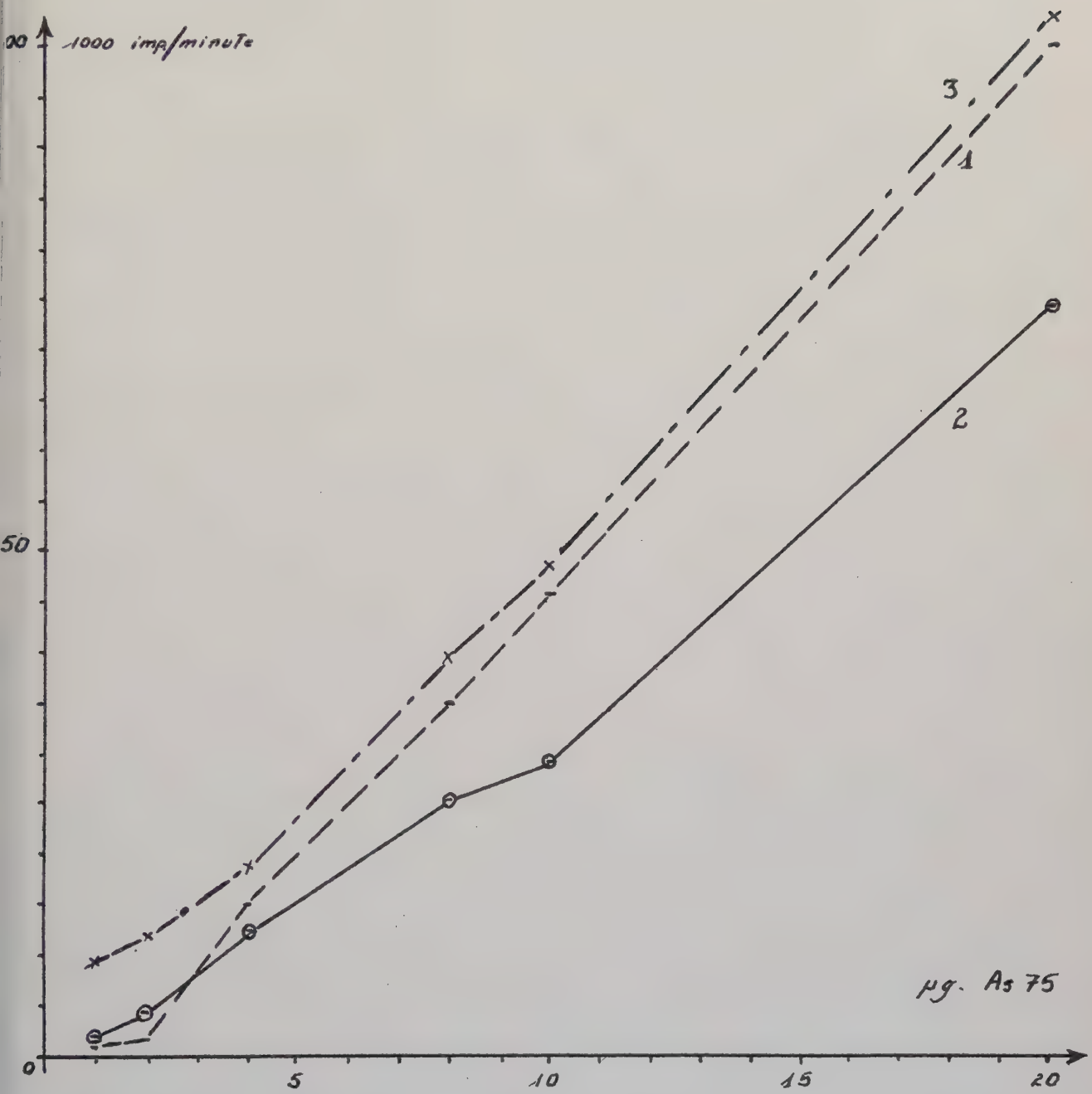
ARSENIC	DOSAGES		
	1	2	3
20 µg As stable 20 µc As 74	296.500	340.700	465.100
10 µg As stable 10 µc As 74	165.000	128.000	170.000
2 µg As stable 2 µc As 74	42.300	42.400	16.200
1 µg As stable 2 µc As 74	35.000	15.600	36.000
1 µg As stable 1 µc As 74	16.500	17.500	16.200

TABLEAU 4

RADIOACTIVITE du PAPIER au Cl_2Hg

en Impulsions/minute.

Arsenic stable	1 µg	2 µg	4 µg	8 µg	10 µg	20 µg
de 0 à 0,5 cm	1.000	1.300	17.100	31.300	21.000	36.400
de 0,5 à 1 cm			300	4.200	19.100	27.000
de 1 à 1,5 cm				200	6.200	17.250
de 1,5 à 2 cm					550	12.500
de 2 à 2,5 cm					100	7.000
de 2,5 à 3 cm						900
de 3 à 3,5 cm						300
de 3,5 à 4 cm						150
Radioactivité Totale détectée	1.000	1.300	17.400	35.700	46.950	101.500



1 — — — Série dont les chiffres expérimentaux sont donnés dans le tableau 3.

2 ——— et 3 — — — Séries effectuées dans les mêmes conditions expérimentales, la radioactivité mise en jeu est toutefois différente au départ.

Le rendement de l'opération oscillant toujours aux alentours de 30 %, il existe donc un facteur d'indétermination, qui nous a paru être représenté par le papier à l'acétate de plomb.

III - Interférence du papier à l'acétate de plomb.

Maintenant le protocole expérimental du paragraphe 2, nous avons effectué des "CRIBIER" en opérant successivement :

- soit avec un papier à l'acétate de plomb. (A).
- soit avec un simple papier Whatman non imprégné (B).
- soit sans papier (C).

(Ci-contre un exemple de nos résultats - Tableau 5).

Ainsi pour un expérience où nous avions au départ 1 µg d'arsenic et 5 µc d'^{74}As, nous avons été très surpris de constater que le papier à l'acétate de plomb retenait une forte proportion de la radioactivité dégagée (30 % environ). C'est pourquoi, nous avons tout d'abord pensé que ce papier pouvait être humide. En conséquence, nous avons opéré avec un papier soigneusement séché. A 5 % près, nous avons retrouvé le même chiffre de comptage.

Nous avons ensuite réalisé le même type d'expérience evec le même papier Whatman n° 1, mais non imprégné d'acétate. Ce papier, sans acétate, fixe encore une proportion notable de la radioactivité (de l'ordre de 10 %).

Ces expériences ont été reproduites en de nombreux exemplaires, les comptages du papier à l'acétate de plomb étant effectués exactement dans les mêmes conditions que ceux du chlorure mercurique. Les résultats se sont révélés incohérents et décevants, le papier à l'acétate de plomb pouvant fixer suivant les expériences entre 15 et 30 % de l'AsH_3.

Donc, il semble que ce papier à l'acétate de plomb soit un point faible de la méthode de CRIBIER ; ce papier est cependant néces-

TABLEAU 5

RADIOACTIVITE ^{74}As en Impulsions/minute 1 µg As stable + 5 µc As 74			
	A	B	C
Papier au Cl_2Hg	16.200	42.300	51.000
Papier à l'acétate de plomb.	76.000	/	/
Papier non imprégné	/	27.500	/

saire puisqu'il doit fixer le SH_2 dégagé et susceptible d'interférer sur la réaction AsH_3 - Cl_2Hg, mais nous voyons qu'il fixe également fort bien l'arsenic. Or, en utilisant ^{74}As, nous étions évidemment sûrs qu'il ne pouvait s'agir de SH_2.

En tout état de cause, cela hypothèque la méthode de CRIBIER, puisque c'est un élément difficilement contrôlable, il semble donc absolument nécessaire d'employer un autre moyen pour bloquer SH_2.

C'est alors que nous avons envisagé de faire le bilan de la méthode décrite par MARTIN & FLORET (217).

Depuis quelques années le diéthyldithiocarbamate d'argent en solution pyridinique, proposé par VASAK-SEDIVEK (297 - 298) s'est révélé un excellent réactif des arsines avec lesquelles il donne une coloration rouge soluble. Son emploi devrait permettre d'associer la précision de la colorimétrie, à la simplicité de la méthode de CRIBIER.

Une telle technique avait déjà été employée par POWERS (244) & KENDALL (171) pour doser l'arsenic dans les huiles de pétrole, par MORRISSON pour doser l'arsenic dans les produits médicamenteux (226).

MARTIN & FLORET (217) ont essayé ce réactif en remplaçant dans la méthode de CRIBIER, le tube droit renfermant les papiers à l'acétate de plomb et au chlorure mercurique par un simple barboteur contenant la solution pyridinique de diéthyldithiocarbamate d'argent.

Ces auteurs ont pu cependant déceler des irrégularités dans les résultats des essais témoins probablement dûs à des variations d'allure dans l'attaque du zinc. Pour pallier cet inconvénient, la méthode colorimétrique semblant pouvoir supporter un dégagement rapide d'hydrogène, MARTIN & FLORET ont essayé d'attaquer du zinc à la température d'ébullition de la solution. Celle-ci est alors plus facile, et le dégagement d'hydrogène très rapide. Pour une bonne absorption de l'arsine formée, ils ont imaginé un absorbeur spécial, grâce auquel ils ont ob-

tenu des résultats très reproductibles.

Dans ces conditions, en milieu chlorhydrique, la transformation complète de l'arsenic en arsine se fait en 15 minutes. En milieu sulfurique, le temps de dégagement est plus long (30 minutes), et il est nécessaire de diluer la solution pour éviter une formation trop importante d'hydrogène sulfuré.

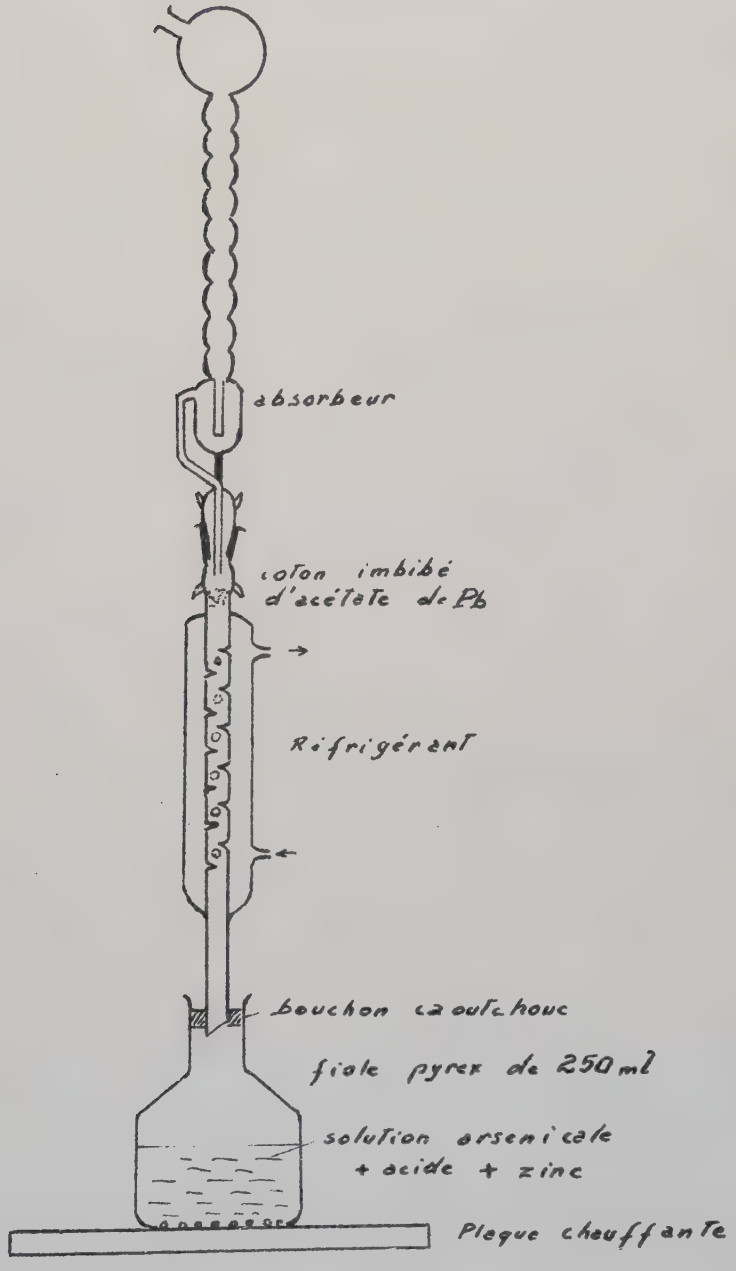
La technique de MARTIN & FLORET se résume de la manière suivante :

- introduire dans l'absorbeur à boules, par sa tubulure supérieure, 3 ml de solution de diéthyldithiocarbamate d'argent et l'adapter au rodage légèrement graissé du réfrigérant, après avoir introduit dans le haut de celui-ci un tampon d'ouate imprégné de solution d'acétate de plomb (le tampon d'ouate est plongé dans la solution, pressé contre la paroi du récipient contenant la solution, puis essoré entre deux feuilles de papier filtre). Verser dans la fiole, la solution arsenicale, la diluer à 25 - 30 ml avec de l'eau, ajouter soit 17 ml d'HCl 6M, soit 20 ml de SO_4H_2 5M. Ajouter 5 ml de IK à 150g/litre, 2 gouttes d'une solution de chlorure stanneux préparée par attaque à froid d'étain en grenailles par de l'acide chlorhydrique.

- homogénéiser, ajouter 3 g de zinc en aiguilles et adapter aussitôt l'ensemble absorbeur-réfrigérant à la fiole. Chauffer celle-ci à ébullition; le temps d'ébullition terminé (15 mm avec HCl, 30 ml avec SO_4H_2) retirer l'appareil du feu et démonter l'absorbeur, que l'on agite pour dissoudre le dépôt rouge formé sur les parois, puis faire couler la solution dans une fiole jaugée de 5 ml. Rincer plusieurs fois à la pyridine, en vidant dans la fiole jaugée et amener à 5 ml.

Mesurer l'absorption de la solution obtenue au spectrophotomètre à 545 mμ en cuve de 1 cm en utilisant comme solution de référence 3 ml de la solution de diéthyldithiocarbamate d'argent, compléter à 5 ml avec de la pyridine".

APPAREIL de MARTIN et FLORET



Déduire la quantité d'arsenic d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions opératoires et les mêmes flacons de réactif.

Désirant définir le rendement de cette technique, nous avons opéré dans les mêmes conditions que MARTIN & FLORET. La seule modification que nous avons apportée, réside dans la préparation du témoin utilisé lors des dosages spectrophotométriques. Nous avons employé la solution pyridinique de diéthyldithiocarbamate d'argent provenant d'un "blanc", afin d'éliminer la possibilité d'un dosage par excès, par suite de traces éventuelles d'arsenic dans les réactifs.

Dans tous nos dosages, nous avons employé conjointement à l'arsenic stable, 10 µc d'arsenic radioactif ^{74}As.

Nous avons opéré soit avec HCl, soit avec SO_4H_2, et pu ainsi obtenir un bilan de la réaction en faisant la détermination de la radioactivité (comptage en scintillation γ) (cristal puits HARSHAW de 2 pouces) :

- de la solution radioactive mise en jeu.
- du résidu du liquide d'hydrogénation.
- du coton à l'acétate de plomb.
- de la solution de diéthyldithiocarbamate d'argent.

Nous avons, bien entendu, opéré dans les mêmes conditions de géométrie, afin que nos déterminations soient comparables.

Nos résultats (moyennes de 10 dosages) sont groupés dans les tableaux 6 et 7.

Comme on peut le voir, ces rendements sont très bons, et ne se sont jamais trouvés inférieurs à 95 %, si on opère avec HCl. Le dégagement d'AsH_3 est pratiquement complet, il est d'ailleurs facile de s'en rendre compte, puisque la radioactivité du résidu du liquide d'hydrogénation, du résidu de zinc, du coton à l'acétate de plomb ne représente pas dans leur ensemble 5 % de la radioactivité initiale.

Donc, la méthode de MARTIN & FLORET est préférable en ce qui concerne le dégagement de AsH_3 à celle de CRIBIER. On arrive à récupérer au lieu des 30 % en 12 heures, 95 % en 15 minutes. On peut également opérer avec SO_4H_2 comme dans le CRIBIER originel, mais il faut augmenter le temps d'ébullition, sans rien gagner, peut être même a-t-on une lègère diminution du rendement. (Il oscille entre 90 et 95 %).

Il apparait également que le coton à l'acétate de plomb est préférable au papier à l'acétate (dans les deux cas d'hydrogénation chlorhydrique ou sulfurique).

Dans ce dernier cas, la radioactivité déposée sur le coton est quelque peu supérieure, (quoique toujours inférieure à 2 % de la radioactivité initiale) à celle décelée lorsqu'on opère avec HCl. Il semble que le SH_2 qui se dépose au niveau du papier à l'acétate de plomb entraine avec lui une légère quantité d'AsH_3.

Nous avons, par ailleurs, examiné spectrophotométriquement (545 mμ) la solution pyridinique ayant réagi avec l'arsine. Là aussi, nous retrouvons les résultats de MARTIN & FLORET ; avec un spectromètre à double faisceau (LERES type T2 DM), nous avons obtenu la même linéarité de la gamme entre 5 et 100 μg, et la même fidélité de la technique. En-dessous de 5 μg, la réaction colorée est plus douteuse, peut être par suite de la limite de réponse de notre appareil. En nous basant sur la radioactivité, nous avons pu vérifier que la réaction était toujours complète pour 0,5 μg).

La valeur de cette méthode nous a dès lors, suggéré d'effectuer certaines modifications dans la technique de CRIBIER.

Comme nous l'avons vu précédemment, la méthode de CRIBIER (64), méthode officielle de la Pharmacopée Française est essentiellement comparative, mais elle représente deux inconvénients majeurs, le mauvais dégagement d'AsH_3 (30 % en 12 heures) et le papier à l'acétate

TABLEAU 6

Mélange hydrogénant HCl + Zn	Technique de MARTIN & FLORET.					
Doses d'As stable mises en jeu en µg	Radioactivité de ^{74}As en impulsions/minute.					
	Au départ	Liquide d'hydrogénation Résidu	Zinc Résidu	Coton à l'acétate de plomb	Solution pyridinique	Rendement %
100	94.500	1.300	700	1.200	91.500	97,3
50	80.000	400	200	1.000	78.000	97,5
25	77.500	500	100	700	76.000	98,0
20	75.000	500	150	300	71.500	95,3
12,5	78.000	600	100	450	77.000	98,7
10	79.500	600	100	500	77.000	96,8
5	72.500	650	100	350	70.500	97,2
3	63.500	200	80	400	62.500	98,4
2	66.000	300	50	250	65.000	98,5
1	70.000	650	100	300	67.500	96,4
0,5	71.000	450	50	100	68.000	95,8

TABLEAU 7

Mélange hydrogénant SO_4H_2 + Zn	Technique de MARTIN & FLORET					
Doses d'As stable mises en jeu en µg	Radioactivité de ^{74}As en impulsions/minute.					
	Au départ	Liquide d'hydrogénation Résidu	Zinc Résidu	Coton à l'acétate de plomb	Solution pyridinique	Rendement %
100	107.000	7.000	1.500	1.800	95.000	88,8
50	108.000	1.350	1.000	2.500	103.500	95,8
25	104.000	3.000	1.000	800	96.000	92,3
12,5	108.000	2.500	700	550	102.000	94,4
10	99.000	4.000	1.100	1.050.	93.000	93,9
5	98.000	3.500	600	750	92.700	95,5
1	90.000	5.000	1.050	700	82.000	91,1

de plomb, qui est l'handicap le plus important d'après nous, puisque la fixation de AsH_3 sur ce dernier est quelconque et ne semble pouvoir être codifiée en aucune manière.

A l'opposé, la méthode de MARTIN & FLORET (217) permet un dégagement à 95 % et supprime l'hypothèque du papier à l'acétate. Pourquoi l'ouate ne fixe-t-elle pas AsH_3 et capte-t-elle SH_2, peut-être du fait de son humidité, mais sans doute du fait du réfrigérant qui peut être intervient dans la vitesse de diffusion de ces gaz ? De toutes façons, en opérant avec HCl au lieu de SO_4H_2, il n'y a plus de problème SO_4H_2.

C'est pourquoi, partant de ces deux techniques basées sur le même principe, nous avons voulu essayer de modifier le CRIBIER et le rendre quantitatif. Pour cela, nous avons réalisé plusieurs types d'expériences :

- 1) - Première modification : au lieu d'opérer à froid, nous avons dégagé AsH_3 à chaud (ébullition). En effet, la réaction SO_4H_2, Zn étant exothermique, il semble à priori logique de chauffer puisqu' ainsi le dégagement de H_2 sera plus rapide. C'est d'ailleurs les variations dans l'attaque du zinc qui avaient incité MARTIN & FLORET à adopter le température d'ébullition.

Dans un appareil de CRIBIER classique, nous avons opéré le dégagement d'hydrogène à l'aide d'acide sulfurique et de zinc en aiguilles, à ébullition. Dans le tube droit, nous avons mis les papiers à l'acétate de plomb et au chlorure mercurique, même préparation et disposition que CRIBIER.

Nous avons porté le tout à ébullition pendant 30 minutes, après avoir mis dans la fiole d'hydrogénation de l'arsenic stable et du radioactif sous forme de ^{74}As.

Nos résultats (moyennes de dix expériences dans chaque série) sont rapportés dans le Tableau 8. Nous avons pris soin, afin de respec-

ter les conditions géométriques de comptage dans le cristal puits, de dissoudre ^{74}As trouvé au niveau des deux papiers, dans des volumes exactement mesurés d'acide nitrique pur, (jusqu'à ce qu'il ne reste plus de radioactivité sur ces papiers).

Le dégagement AsH_3 est pratiquement complet ; il existe des résidus de radioactivité infimes au niveau du liquide d'hydrogénation et au contact du zinc.

Par contre, le dépot de AsH_3 est toujours notable au niveau du papier à l'acétate. (environ 10 %), mais cependant, amélioration par rapport au CRIBIER classique, du moins en solution pure :

-2) - Deuxième modification : Dans la technique de MARTIN & FLORET, le dépôt de AsH_3 est moindre en présence de ClH. Nous refaisons donc le même type d'expérimentation à partir d'un liquide d'hydrogénation chlorhydrique (tableau 9). Dans ces conditions, le rendement de l'opération s'améliore, il atteint et dépasse largement 90 %, la radioactivité décelée sur le papier à l'acétate ne représente plus que 5 % en moyenne de celle mise en jeu.

-3)- Troisième modification : Au lieu d'utiliser un papier à l'acétate de plomb, nous avons employé un coton imprégné à l'acétate de plomb, ainsi que l'indique MARTIN & FLORET, et maintenu le réfrigérant de leur appareil (Tableau 10).

Comme on le voit, dans de telles conditions, le rendement de la réaction est de l'ordre de 95 à 98 %. Le coton à l'acétate de plomb ne retient pratiquement plus d'AsH_3 (radioactivité décelée, à peine dans les limites de comptages). L'évaluation de l'échelle de CRIBIER avec le papier au chlorure mercurique est bonne et reproductible (Tableau 11) (courbe ci-contre).

TABLEAU 8

1° Modification proposée.

Méthode d'hydrogénation selon MARTIN & FLORET

: SO_4H_2 à ébullition.

Méthode de détection selon CRIBIER

: Papiers à l'acétate de plomb et au chlorure mercurique.

Doses d'As stable	Radioactivité ^{74}As en impulsions/minute.						
Mises en jeu en µg	Départ	Liquide d'hydrogénation Résidu	Zinc Résidu	Papiers Acétate de plomb.	Papiers Chlorure mercurique	Rendement %	
100	108.000	1.500	500	8.200	95.000	88	
50	110.000	900	700	10.700	94.000	85	
25	89.000	2.000	900	3.100	82.000	92,1	
10	92.500	5.000	850	4.900	80.700	87,2	
5	85.000	4.500	800	7.900	73.800	86,8	

TABLEAU 9

2° Modification proposée						
Méthode d'hydrogénation selon MARTIN & FLORET : ClH à ébullition Méthode de détection selon CRIBIER : papiers à l'acétate de plomb et au chlorure mercurique.						
Doses d'As stable	Radioactivité ^{74}As en impulsions/minute.					
Mises en jeu en µg	Départ	Liquide d'hydrogénation Résidu	Zinc Résidu	Papiers Acétate de plomb	Papiers Chlorure mercurique	Rendement %
50	110.000	2.500	100	6.600	104.000	94,5
25	113.000	1.650	500	1.850	98.000	86,7
20	109.000	1.560	250	2.100	106.000	97,2
10	85.000	2.000	1.000	1.700	79.700	93,8
5	85.500	1.000	450	2.050	81.500	95,3
2	84.000	2.500	600	2.600	77.500	92,2
1	80.500	2.250	900	1.950	73.800	91,7

TABLEAU 10

3° Modification proposée

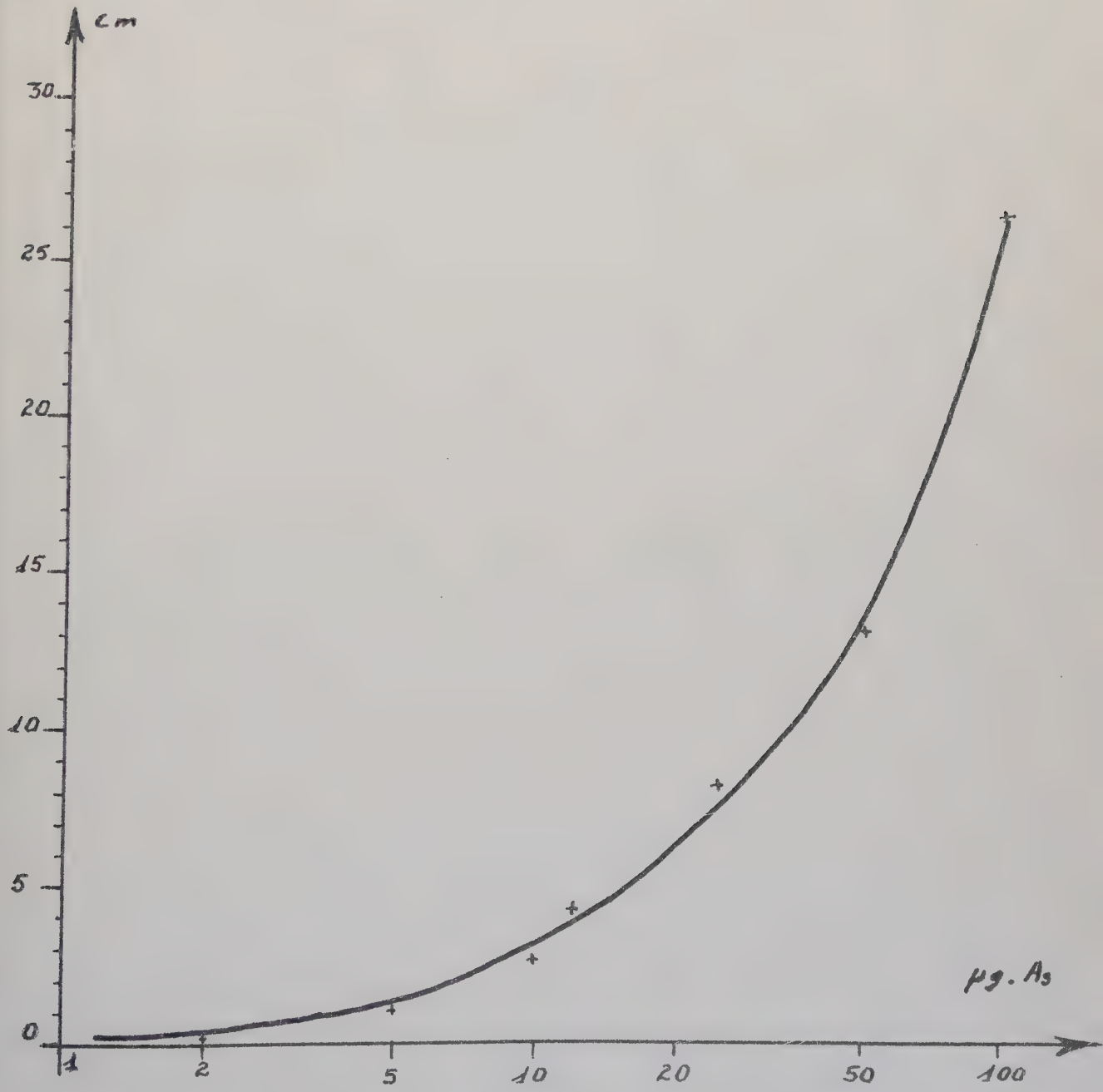
Méthode d'hydrogénation selon MARTIN & FLORET
:(HCl a ébullition).
: réfrigérant et coton à l'acétate de plomb.
Méthode de détection selon CRIBIER
: papier au chlorure mercurique.

Doses d'As stable mises en jeu en µg	Radioactivité ^{74}As en impulsions/minute.						
	Départ	Liquide d'hydrogénation: Résidu	Zinc Résidu	Papiers: Acétate de plomb	Papiers: Chlorure mercurique	Rendement %	
100	105.000	1.000	800	200	102.300	97,4	
50	104.500	1.000	1.000	350	101.200	96,8	
25	100.000	1.500	800	380	96.300	96,3	
12,5	110.000	1.600	680	700	107.000	97,2	
10	96.500	1.550	450	720	93.700	97,0	
5	89.000	3.000	250	450	85.700	96,3	
2,5	77.500	1.250	200	500	73.700	95,1	
2	75.000	1.550	340	430	72.500	96,7	
1,25	65.000	950	260	650	62.700	96,4	
1	57.500	1.050	230	460	55.000	95,6	
0,5	38.500	650	260	410	36.800	95,6	
0,2	27.000	520	170	330	25.500	94,4	
0,1	12.000	480	140	290	10.800	90,0	

TABLEAU 11

HAUTEUR de la COLORATION de CRIBIER	
Technique Modifiée	
Doses d'As stable en µg	Hauteur de la coloration
100	26,6 cm.
50	13,3 cm.
25	8,2 cm.
12,5	4,3 cm.
10	2,5 cm.
5	1,2 cm.
2,5	0,5 cm.
2	0,3 cm.
1,25	0,2 cm.
1	

COLORATION de "CRIBIER".



Il semble donc, qu'ainsi modifié, le "CRIBIER" puisse donner au toxicologue une meilleure appréciation dans le dosage de l'arsenic.

Comme il est possible d'objecter que cette expérimentation a été réalisée avec des solutions pures, et non avec un liquide de destruction nitro-sulfurique susceptible de dégager à chaud des quantités importantes d'hydrogène sulfuré, nous avons refait intégralement ces expériences en partant cette fois d'un liquide de destruction.

On trouvera dans le Tableau 12 nos résultats.

Ces résultats sont conformes à nos expériences précédentes, en effet le volume d'acide sulfurique introduit par l'intermédiaire du liquide de destruction, n'est pas susceptible d'interférer dans le rendement de la réaction. On a d'ailleurs pu se rendre compte que 20 ml de SO_4H_2 5M, n'entrainait pas un dépôt d'AsH_3 supérieur au maximumà à 5 % sur le coton à l'acétate de plomb (technique MARTIN & FLORET). Et dans tous les cas expérimentés (de 0,1 µg à 100 µg) le rendement au niveau du papier au chlorure mercurique a toujours été compris entre 93 et 95 %/

En conclusion, il semble possible de rendre pratiquement complet le dégagement d'AsH_3 à partir d'un liquide de destruction, si l'on prend soin d'effectuer le dégagement à la température d'ébullition du mélange, en présence d'un coton à l'acétate de plomb et d'un papier au chlorure mercurique. Il est préférable d'opérer avec de l'acide chlorhydrique, on supprime ainsi le SH_2 éventuel et le dosage peut être de cette manière fait en 15 minutes.

TABLEAU 12

Technique de CRIBIER modifiée

réalisée sur un liquide d'extraction nitro-sulfurique

Doses d'As stable	Radioactivité ^{74}As en impulsions/minute.					
		Liquide d'hydrogénation	Zinc	Papiers		
Mises en jeu en µg	Départ	Résidu	Résidu	Acétate de plomb	Chlorure mercurique	Rendement %
100	80.000	2.500	200	700	75.500	94,4
50	78.000	3.800	750	500	73.200	93,8
25	78.500	2.500	700	900	73.500	93,6
12,5	95.000	3.400	800	1.300	90.500	93,6
10	82.000	2.500	1.000	850	77.500	94,5
5	60.000	2.700	950	750	56.200	93,7
2,5	81.000	2.200	1.000	900	75.400	93,1
2	64.000	2.100	550	550	60.350	94,3
1,25	70.000	3,500	600	650	65.200	93,1
1	65.500	2.000	300	700	61.400	93,7
0,5	60.600	2.300	540	1.500	57.000	94,1
0,2	60.400	1.800	450	1.400	57.500	95,2
0,1	54.700	1.750	300	1.500	51.000	93,2

CHAPITRE 4

DOSAGE de l'ARSENIC selon la METHODE de CORDEBARD en PRESENCE de ^{74}As.

La méthode due à CORDEBARD & LOUIS (60 - 61 - 62 - 212) qui consiste à transformer l'arsénic en complexe arséno-molybdique, puis à réduire celui-ci en bleu de molybdène est une technique recommandée par le comité anglais des méthodes analytiques. Certains auteurs la trouvent d'un emploi relativement compliqué. Cependant, nous avons voulu, vu la différence de principe avec les réactions type CRIBIER, déterminer également son bilan au moyen de ^{74}As.

CORDEBARD signalait que dans ses conditions expérimentales, la fixation d'arsenic sur le cuivre était pratiquement totale.

L'étude du rendement au moyen de ^{74}As, effectuée sur différentes doses d'arsenic stable (10 dosages dans chaque cas) nous a donné des chiffres compris entre 94 et 97 % suivant les cas. (Tableau 13 et 14). Cette méthode est apparemment valable, mais son point faible est certainement la réaction céruléo-molybdique que nous avons effectuée au moyen d'un spectrophotomètre (LERES DT 12M), pour laquelle nous avons noté d'une manière constante un défaut de reproductibilité.

Dans ces conditions, nous avons considéré que le déplacement de l'arsenic sous forme d'arséniure de cuivre constituait une méthode d'extraction absolument valable puisque les rendements s'échelonnaient entre 94 et 98 %.

D'autre part, la dissolution de l'arséniure de cuivre, par une solution ammoniacale n'occasionne pas de pertes puisque nos compta-

TABLEAU 13

Technique de CORDEBARD			
Arsenic stable en µg	Radioactivité en impulsions/minute		
	Au départ	Au niveau de la liqueur céruléo-molybdique	Rendement %
50	30.800	29.600	96,1
25	29.000	28.300	97,5
12,5	32.500	31.000	95,3
6,25	26.500	25.400	95,8
4	30.000	29.400	98,0
2	32.500	31.400	96,6
1	32.300	30.200	93,4

TABLEAU 14

Technique de CORDEBARD

Arsenic stable en µg	Radioactivité en impulsions/minute		
	Au départ.	Au niveau de la liqueur céruléo-molybdique.	Rendement %
50	179.000	169.200	94,5
25	118.600	118.500	99,9
12,5	85.000	80.600	94,8
6,5	77.000	74.600	96,9
4	72.800	71.600	98,3
2	50.700	50.000	98,6
1	23.800	22.400	94,1

ges sont effectués juste avant la mise en oeuvre de la réaction colorée céruléo-molybdique.

A notre point de vue, le seul point faible de la méthode est cette réaction colorée qui exige de nombreuses précautions, une grande habitude et que nous avons généralement trouvée inconstante.

Pour cette dernière raison, nous avons pensé qu'il serait intéressant de supprimer le dernier temps colorimétrique et de le remplacer par une méthode plus fidèle.

Nous ne donnerons ici que le principe de celle-ci, car dans un domaine aussi controversé que celui du dosage de l'arsenic, nous avons voulu nous entourer de toutes les garanties, et effectuer un nombre d'expériences très grand.

La solution arsenicale est mise en présence de cuivre préalablement soumis à l'irradiation par les neutrons thermiques, (le principal isotope formé est le Cuivre 64 et l'on connait avec précision la radioactivité spécifique de la plaque de cuivre immergée). Ce cuivre 64 forme avec l'arsenic un arséniure de cuivre dont on détermine après solubilisation la radioactivité. On effectue la même opération pour un "témoin", et le rapport des radioactivités fournit le rapport des concentrations.

Grâce à ce procédé, nous avons pu nous rendre compte que les sensibilités obtenues étaient au moins dix fois supérieures à celles des meilleures méthodes conventionnelles et que l'on pouvait descendre sans difficulté jusqu'au 1/10 de µg d'arsenic. Cependant, nous avons constaté certaines discordances par le procédé de la lame de cuivre, dans la reproductibilité de nos déterminations, et nous avons pensé que l'irradiation de celle-ci n'était probablement pas homogène, sa radioactivité spécifique pouvant varier en fonction des différents points de sa surface. Il était alors très important d'effectuer l'essai témoin et le

dosage avec des lames de cuivre se trouvant pratiquement dans la même position lors de l'irradiation par les neutrons thermiques.

Pour obtenir des conditions absolument reproductibles, il était donc nécessaire de dissoudre la plaque de cuivre dans l'acide azotique, puis de reprécipiter le métal au moyen d'anhydride sulfureux, et de laver abondamment.

Cette méthode nous a donné satisfaction, et le cuivre 64 pulvérulent mis en présence de la solution arsenicale capte ce métal de la même façon que la plaquette.

Nous avons encore trouvé plus simple de nous procurer du chlorure cuivreux 64, de précipiter le cuivre de cette solution et après lavage, d'effectuer la réaction de CORDEBARD.

Cette méthode, dont les résultats expérimentaux feront l'objet d'une publication ultérieure a l'avantage de supprimer les incertitudes dues à la coloration céruléo-molybdique et d'augmenter sa sensibilité dans de très notables proportions.

Notons enfin, que le rendement global de l'opération peut être facilement déterminer par double marquage ^{74}As et ^{64}Cu, car il est facile, en jouant sur la différence des périodes (17,5 jours, 12,8 heures) de déterminer la radioactivité d'un élément ^{74}As après la mort de l'autre ^{64}Cu.

Enfin, nous avons toujours comparé un témoin à une prise d'essai pour dosage, mais il importe de souligner que si la radioactivité spécifique du cuivre est connue avec précision, la détermination peut être facilement supprimer, et l'on est en présence alors d'un dosage absolu de l'arsenic.

TROISIEME PARTIE

QUELQUES QUESTIONS POSEES par le METABOLISME de l'ARSENIC

CHAPITRE 1

L'ARSENIC NORMAL

Il existe donc de nombreuses techniques pour doser l'arsenic. Les différentes Pharmacopées ont adopté celles qu'elles ont jugé les meilleures.

Toutefois pour discuter les résultats des dosages, une question importante se pose ; c'est celle de savoir si ce "toxique" existe normalement dans les organes et à quelle dose.

L'arsenic est à la fois un élément normal, et un élément constant :

- Elément normal, car il joue un rôle physiologique certain dans les processus vitaux. En son absence, la vie de l'organisme serait impossible.

- Elément constant, car on le trouve dans certains organes sans que, dans ces cas, on puisse lui attribuer un rôle physiologique quelconque (par exemple, thyroïde). Sa concentration est alors très

variable et sa présence probablement due uniquement à un apport alimentaire et à un stockage tissulaire.

Les constatations précédentes ont soulevé d'importantes polémiques et nécessité un travail considérable.

L'hypothèse de l'arsenic normal est due à COUERBE. Elle fut tour à tour approuvée, puis rejetée par ORFILA (231 - 232 - 233).

En 1841, une commission de l'Académie des Sciences, chargée d'élucider ces problèmes conclut :

"Quant à l'arsenic normal, que l'on avait annoncé dans le corps de l'homme, toutes les expériences que nous avons faites, tant sur la chair musculaire que sur les os, nous ont donné des résultats négatifs". (THENARD - BOUSSINGAULT - DUMAS - REGNAULT).

L'hypothèse de l'arsenic normal fut dès lors reléguée parmi les erreurs scientifiques.

Il en fut ainsi jusqu'en 1899. Armand GAUTIER (121 - 122 - 123) s'inscrivit alors contre cette assertion. Pour son étude, il perfectionna l'appareil de MARSH et employa un nouveau mode de destruction des organes. Il trouva de l'arsenic à l'état de traces dans le lait, les os, la peau et les phanères ; à doses plus notables dans la glande mammaire et surtout dans la thyroïde, mais il n'en mit jamais en évidence dans les autres organes.

D'après cet auteur, si la commission de l'Académie avait obtenu des résultats négatifs, c'est qu'elle avait employé des procédés imparfaits (méthode au chlore) et qu'elle avait opéré sur le muscle qui ne contient pas d'arsenic.

Gabriel BERTRAND (17 - 20 - 21 -) s'intéressa à cette question. Il n'obtient tout d'abord que des résultats négatifs. Néanmoins, aidé de GAUTIER il parvint à obtenir des anneaux d'arsenic appréciables à

partir de glandes thyroïdes.

Encouragé par ces résultats, il reprit le problème dans ses moindres détails. Il modifia tout d'abord le procédé de destruction de GAUTIER, utilisa des réactifs purifiés, en particulier l'acide nitrique.

Il opéra non seulement sur des organes humains ou animaux, mais encore sur des poissons capturés loin des côtes au plus profond des mers pour éviter toutes contaminations arsenicales. Il trouva de l'arsenic dans tous les tissus.

Néanmoins, ces résultats furent discutés par GAUTIER lui-même.

C'est alors que BERTRAND détruisit les organes dans une bombe calorimétrique en platine, par simple combustion dans l'oxygène pur, sous pression. Les résultats furent positifs et dès lors la question n'eut plus de contradicteur. L'arsenic normal existait donc.(19)

JADIN & ASTRUC étendirent ensuite cette notion au monde végétal. Précisons cependant que les taux d'arsenic trouvés sont, sauf dans des cas tout à fait exceptionnels, extrêmement minimes. (155 - 156 - 157).

Il faut cependant signaler les teneurs relativement élevées d'arsenic trouvées dans certains crustacés et mollusques marins par CHAPMAN (49) résultats confirmés dans leur ensemble en France par CHEFTEL avec la collaboration de JAULMES, PRECEPTIS -NGO-HOAI (52). D'après ces auteurs, les teneurs suivantes d'arsenic par kg de matière comestible fraîche doivent être considérées comme normales pour les espèces étudiées : 10 à 20 mg pour les crustacés (Bouquet, Crabe, etc...) et 5 à 15 mg pour les mollusques (Palourdes, Bouce, Pieds etc...).

Du point de vue de l'hygiène alimentaire de telles doses sont très élevées. Mais CHAPMAN a montré que cet arsenic se trouve à l'état de combinaisons organiques dont il n'est pas libéré par les ferments digestifs et qui se retrouvent intactes dans les urines, ce qui explique selon lui, la non-toxicité de pareilles doses.

Du point de vue médico-légal, la présence normale d'arsenic à doses élevées chez ces animaux marins pourrait, dans certains cas exceptionnels, conduire à des conclusions erronées. Ce dernier doit donc en tenir compte. (KOHN-ABREST) (181).

Les valeurs admises chez l'homme sont aujourd'hui les suivantes :

- thyroïde..... 7,5 mg/kg
- glande mammaire..... 1,3 "
- peau..... traces
- lait..... 0,01 mg/kg
- os.....
- cerveau..... } quantités très faibles ou nulles.
- sang.....0,005 mg/litre.

urines : le taux est en rapport avec l'alimentation, donc assez variable. La quantité éliminée par 24 heures varie normalement de 0,010 à 0,150 mg.

cheveux et poils : c'est un lieu électif de fixation, taux normaux de 0,5 à 0,7 mg/kg. Le taux de 5 mg/kg, avancé par certains auteurs serait trop élevé.

ongles : 1,5 à 4 mg/kg.

viscères : sur un échantillon moyen de viscères provenant de sujets qui n'ont sûrement pas été en contact avec de l'arsenic, on trouve en moyenne 0,045 mg/kg, soit 0,3 mg pour la totalité des viscères dans l'organisme entier ; la quantité totale d'arsenic trouvée varie de 0,6 à 1,2 mg.

Un certain nombre d'auteurs se sont attachés à étudier la répercussion de l'absorption éventuelle de denrées alimentaires souillées d'impuretés arsenicales. En effet, certaines substances servant à la préparation de matières alimentaires (confitures, bière, caramel etc...) font intervenir dans leur fabrication des produits pouvant être souillés d'arsenic (cas du glucose obtenu industriellement par hydrolyse de produits amylacés avec de l'acide sulfurique). Rappelons à ce sujet les

intoxications collectives dues à la bière dans certaines villes anglaises (MANCHESTER, LIVERPOOL, BIRMINGHAM) au cours de l'année 1900.

De plus, l'utilisation de dérivés arsenicaux comme parasiticides agricoles (maladies cryptogamiques de la vigne, doryphore de la pomme de terre....) pose le problème de la persistance d'une certaine dose d'arsenic sur les aliments traités. C'est pourquoi, une législation rigoureuse a été édictée concernant les époques de traitement et les doses maximum tolérables d'arsenic dans les matières livrées à la consommation (0,3 mg/litre de vin).

Mais, les variations du taux d'arsenic normal sont très faibles. KOHN-ABREST en particulier, a examiné les viscères de 110 cadavres pris au hasard de morts suspectes, en exceptant celles où il aurait pu s'agir d'intoxications arsenicales. Il n'a trouvé que 4 fois (soit 3 % des cas) une dose d'arsenic égale ou supérieure à 1 mg (1 à 3,4 mg) et à l'arsenic en excès mis ainsi en évidence, il a donné le nom d'ARSENIC PSEUDO NORMAL, en soulignant bien que son taux reste toujours très inférieur à celui que l'on retrouve lors d'une intoxication arsenicale.

CHAPITRE 2

FIXATION ARSENICALE EXOGENE

Il y a été très longtemps admis que l'"arsenic reste indéfiniment dans le cadavre, ce qui permet des examens chimiques après exhumation tardive" (DEROBERT) (82) et que l'eau mise en présence d'une terre arsenicale ne dissout ni par contact dans le temps, ni par lixiviation aucune fraction de son arsenic (GARNIER & SCHLAGDENHAUFFEN) (116). De plus FABRE admet que "les eaux pluviales et de circulation ne dissolvant pas l'arsenic ne peuvent en véhiculer une quantité tant soit peu appréciable, susceptible d'imprégner ultérieurement les vestiges des corps enfouis dans les cimetières". De même GRIFFON (136) constate que "lorsque les organes d'un cadavre ont pratiquement disparu, les cheveux sont restés sensiblement identiques qualitativement et quantitativement à ce qu'il étaient au moment de la mort".

S'il est exact qu'il est impossible d'extraire l'arsenic par lixiviation aqueuse d'une terre, il n'en est pas moins vrai qu'un traitement par les acides peut en extraire des doses allant de quelques mg à 60 mg/kg.

Deux point importants semblent dès lors demander une certaine attention :

L'arsenic exogène peut-il venir se fixer sur le cadavre et particulièrement sur les cheveux post-mortem ?

L'arsenic insoluble du sol est-il mobilisable ?

TRUFFERT a répondu à la première question. Il constate que des cheveux d'exhumés ont les mêmes caractères (gonflés et ramollis) que ceux ayant subi des permanentes à froid. Or, il a été démontré que les produits utilisés pour les permanentes agissent par rupture des ponts cystiniques de la kératine des cheveux, avec libération de la fonction SH de la cystine. On sait que l'arsenic a une grande affinité pour ces groupes.

Partant de ce fait, TRUFFERT a fait agir sur des cheveux des produits utilisés pour permanentes en présence d'arsenic. Il plonge les cheveux dans des solutions d'arsénite de sodium renfermant de l'acide thioglycolique, de l'acide thiolactique et du thioglycol. Il constate, malgré les lavages (en particulier à l'acide chlorhydrique) que l'arsenic est bien combiné aux cheveux.

Opérant avec le sulfure d'ammonium, les résultats sont négatifs. TRUFFERT explique ce fait par la formation de sulfo-arsénite de sodium, plus stable que la combinaison cystine arsenic. En effet, après immersion du cheveu dans une solution de sulfure d'ammonium et élimination intégrale de ce dernier, le cheveu placé dans une solution d'arsénite fixe l'arsenic.

L'arsenic est donc fixé par le cheveu sous l'influence de la cystéïne. Il n'y a pas selon lui de différence in vitro et in vivo.

Mais, les phénomènes de putréfaction libèrent-ils de la cystéïne ? A priori oui, car on observe une odeur soufrée et un pouvoir réducteur important . Mais les putréfactions peuvent être variables, puisque les flores microbiennes qui leur donnent naissance sont très diverses.

TRUFFERT essaye alors des macérations de cheveux dans différents échantillons de sang plus ou moins putréfiés, additionnés d'arsenic. Il n'observe pas de fixation automatique.

Avec des viscères broyés et rendus arsenicaux, il observe des résultats variables : avec l'estomac et l'intesti n rien. Avec le foie, le rein, le poumon et le coeur, la fixation peut atteindre 80 % de l'arsenic additionné.

Il y a vingt ans, Van ITALLIE (292 à 296) proposa les cheveux pour la détermination de la date d'une intoxication arsenicale. Pour TRUFFERT, les résultats donnés sont inconstants. Il estime que, pour affirmer une intoxication, il est nécessaire de trouver une dose supérieure à 50 mg/kg d'arsenic. Les autres auteurs admettent seulement un mg/kg comme limite de fixation de l'arsenic non éliminé par lavage chlorhydrique.

TRUFFERT pose toutefois comme principe que toutes les conclusions d'expertise toxicologique post-mortem basées sur la présence d'As dans les cheveux ne peuvent être considérées à priori comme fausses, car, si la contamination exogène existe indubitablement, elle exige un assez grand nombre de conditions simultanément résolues pour se produire.

- inhumation dans un terrain imperméable (non aéré) la présence d'air empêche la réduction de la kératine.
- cadavre baigné dans une eau arsenicale, même à un taux très faible (le phénomène d'accumulation étant valable).
- souillure des cheveux par des débris d'organes soit par contact avec le cerveau après rupture cranienne, soit par réinhumation après autopsie.
- phénomènes putréfactifs très variables.
- l'imprégnation du cheveu peut être totale ou partielle (les endroits touchés par les viscères en putréfaction) et irrégulière.
- les cheveux ayant subi de tels contacts peuvent alors, ultérieurement fixer énormément d'arsenic.

Le second point à discuter est de savoir si l'arsenic insoluble du sol est mobilisable . En effet, il faut savoir que certaines

terres peuvent contenir une proportion relativement élevée d'arsenic. Aussi dans le cas où les débris de cadavre sont souillés de terre, il est nécessaire de doser l'arsenic dans celle-ci. Pour envisager éventuellement un enrichissement en arsenic du cadavre par l'intermédiaire des eaux de pluie, il est utile de rechercher si la terre, épuisée à plusieurs reprises par de l'eau distillée lui abandonne de l'arsenic.

OLIVIER & LEPEINTRE (196 - 197 - 198 - 230) ont montré que selon le potentiel redox du sol, les arséniates sont réduits en arsénites, ou les arsénites oxydés en arséniates. Ces phénomènes sont dus à des micro-organismes parfaitement identifiés ; des champignons comme les aspergillus réduisent les arséniates en dérivés volaiils de l'arsenic. Il peut donc y avoir mobilisation de l'arsenic du sol.

Des travaux d'OLIVIER & LEPEINTRE, il est possible de conclure que l'arsenic tout comme le fer sont mobilisés suivant les variations du potentiel redox du milieu ambiant, provoqués par la flore microbienne.

De plus, la fermentation anaérobie des substances anaérobies des molécules organiques, en solubilisant par réduction le fer des sols, provoque le passage en solution de l'arsenic lié au métal.

Or, dans tous les sols, ces conditions expérimentales peuvent se trouver réunies. Donc, la probabilité de mobilisation de l'arsenic est grande, mais la certitude non absolue.

Ces faits établis, OLIVIER & LEPEINTRE ont placé des cheveux dans des milieux de culture ensemencés avec divers microbes dans les conditions d'oxydo-réduction préalablement précises, et ceci en présence de sels de fer et d'arséniates insolubles. Ces auteurs purent montrer que l'arsenic insoluble se fixait sur les cheveux.

CHAPITRE 3

ETUDE de la DYNAMIQUE de l'ARSENIC au moyen de ^{74}As.

A la suite de ces diverses publications nous avons abordé les problèmes concernant la dynamique de l'arsenic au moyen de l'arsenic 74. Pour cela, nous nous sommes particulièrement intéressés à la question de la fixation "in vitro" de l'arsenic exogène par les cheveux, car, c'est une notion ancienne et assez largement admise que les cheveux sont capables de fixer l'arsenic d'origine exogène ; mais la fixation peut varier en intensité suivant les circonstances, et son mécanisme est loin d'être totalement élucidé. De nombreux travaux WILLCOX (306), SMITH (269), DEROBERT & MICHON (82), MICHON (222 - 223 - 224), LEPEINTRE & OLIVIER (195 à 198), GRIFFON (136), TRUHAUT (288) ont montré que cette fixation dépendait de nombreux facteurs, et qu'il existait une différence entre la répartition de l'arsenic endogène et exogène le long du cheveu, la répartition s'avérant non homogène dans le second cas, ainsi que l'avait souligné Van ITALLIE (292 à 296). Ces auteurs avaient également étudié le rôle joué par les différents lavages subis par le cheveu avant le dosage, afin de déterminer dans quelles proportions l'arsenic exogène pouvait être ainsi extrait. Mais sur ce point, il existe des divergences d'opinions.

Toutes ces expériences reposent principalement sur le dosage de l'arsenic par voie chimique. Or, le toxicologue voit ses investiga-

tions limitées par la sensibilité des méthodes de dosage. Pour pallier cet inconvénient, nous avons donc utilisé une méthode exclusivement physique et nous avons utilisé l'arsenic 74(émetteur β, γ) (période : 17,5 jours).

Les comptages ont été faits dans un cristal puits HARSHAW de 2 pouces (en scintillation directe).

Les cheveux utilisés, exclusivement féminins avaient subi des traitements capillaires. Or, il semble établi que les traitements préalables des cheveux par les acides thioglycolliques facilitent la fixation de l'arsenic exogène, on doit donc tenir compte de ce fait pour l'interprétation des résultats.

Nous avons, en effet recommencé totalement la même expérimentation, en employant cette fois des cheveux n'ayant subi aucun traitement préalable et dans l'ensemble nos résultats ont été identiques.

I - Arsenic III

Notre expérimentation a porté sur la pénétration de l'arsenic trivalent et de l'arsenic pentavalent dans le cheveu, selon le protocole suivant :

10 gr de cheveux préalablement lavés à l'eau distillée, à HCl 5 % et à l'acétone, sont placés en atmosphère d'hydrogène dans un ballon de 5 litres en présence de 1 500 ml d'une liqueur d'arsenic trivalent sous forme d'arsénite de sodium (concentration 1 mg As III/litre) et contenant 2 millicuries d'arsenic 74. L'incubation dure 48 jours dans cette solution à pH 5,2.

Au bout de ce temps, les cheveux ont été retirés du bain, et très soigneusement lavés à l'eau distillée (300 ml d'eau distillée à six reprises). Nous avons pu constater qu'à partir du deuxième lavage, la radioactivité de l'eau était pratiquement nulle (200 imp/mn). Par contre, un comptage des cheveux après lavage montrait qu'ils avaient fixé environ 35 % de la dose d'incubation.

Nous les avons ensuite lavés à l'acétone. Une très faible quantité d'arsenic trivalent en est extraite.

Nous avons enfin placé les cheveux dans des solutions d'acide chlorhydrique de concentrations croissantes (5 - 10 - 20 - 50 %).

Nous avons ainsi pu déterminer la quantité d'As III fixée par le cheveu, en faisant le calcul suivant :

Dans un volume total de 1 500 ml (solution d'incubation) nous avons mis 1,5 mg d'As III.

L'activité totale de la solution dans nos conditions de comptage est de 49.200.000 imp/mn.

On peut donc poser :

$R = 32.800.000$ imp/mn/litre.

Après six lavages à l'eau, la radioactivité totale des eaux de lavage est :

$R_1 = 756.000$ imp/mn.

Ce qui correspond à une concentration de 0,023 mg/litre d'As III.

De la même façon, on trouve après lavage à l'acétone :

$R_2 = 27.000$ imp/mn.

soit une concentration de 0,008 mg/litre d'As III.

Enfin, la radioactivité R_3 des 10 g de cheveux après ces différentes opérations est déterminée et trouvée égale à 1.800.000 imp/mn, il y a donc eu fixation de 0,548 mg d'As III.

En conséquence, on peut dire que les 10 gr de cheveux ont fixé $\frac{0,548}{1.500}$: soit 36 % de la dose d'incubation.

Ces cheveux ont été ensuite traités par 50 ml d'acide chlorhydrique à 5 % pendant 10 minutes. L'activité de la liqueur montre qu'une infime concentration d'arsenic III est extraite. (environ 200 imp/mn/ml)

- Deux lavages à l'acétone sont alors effectués (activité nulle).

- Les cheveux sont enfin séchés et placés dans des solutions d'acide chlorhydrique de titre variant de 10 à 50 % (10 minutes de contact à chaque bain).

Le détail de nos résultats est résumé dans le tableau 15.

Nos résultats prouvent que l'arsenic exogène est très facilement fixé par le cheveu, et ceci de manière tenace, puisque il résiste très bien aux traitements par les solutions chlorhydriques. Il faut arriver à des concentrations de 50 à 60 % en acide chlorhydrique pour libérer 7 à 8 % de la radioactivité et par conséquent, il semble donc que l'arsenic soit fixé au cheveu d'une manière particulièrement solide.

En effet, on voit qu'au total on a pu extraire par les lavages chlorhydriques 0,156 mg d'arsenic, qu'il faut soustraire des 0,548 mg présents dans la masse de cheveux en expérience après lavages à l'eau et à l'acétone. Le cheveu a donc fixé en définitive et de façon extrêmement solide :

0,548 - 0,156 = 0,392 mg, soit environ 29 % de la dose primitive.

En présence de ce résultat nous avons voulu avoir une idée de la forme sous laquelle l'arsenic ainsi fixé existait dans le cheveu. Il ne semblait pas s'agir d'un phénomène d'absorption, et il était probable que l'arsenic avait pénétré dans le cheveu et contracté avec celui-ci des combinaisons particulièrement résistantes. Pour nous en assurer, nous avons hydrolysé les cheveux ayant subi les différents traitements chlorhydriques au moyen de pancréatine (ARMOUR-CHICAGO) à pH 8,4 pendant 48 heures à l'étuve à 37°C.

Les hydrolysats ont été soumis à la chromatographie descendante en solvant de Partridge biphasique (butanol 80, acide acétique 20, eau 100 v/v), (papier Whatman n° 2).

TABLEAU 15

TRAITEMENT CHLORHYDRIQUE des CHEVEUX Durée du bain : 10 minutes.			
Traitements	Prise d'essai de cheveu en g.	Radioactivité en imp/mn. ramenée à 10 g de cheveux.	Quantité d'As libéré par 10 g de cheveux.
Eau	0,644	270.000	0,008 mg
HCl 5 %	0,819	550.000	0,016
HCl 10 %	1,153	670.000	0,020
HCl 20 %	0,888	1.900.000	0,033
HCl 50 %	0,813	2.860.000	0,087
Nombre de milligrammes d'As libéré par 10 g. de cheveux au moyen d'un traitement par HCl.			0,156

Nous avons ainsi réalisé plusieurs séries de chromatogrammes :

- celui de la solution d'arsenic74 avant toute incubation.
- celui de la même solution d'arsenic74 après incubation.
- celui d'une solution de cystéïne incubée pendant 24 heures à 37°C avec ^{74}As et purifiée (c'est-à-dire élimination de ^{74}As par passage sur DOWEX 1X2 - 200-400 mesh).
- celui des différents hydrolysats pancréatiques des cheveux ayant subi soit le lavage à l'eau, soit les différents traitements à l'acide chlorhydrique.

Nos résultats sont groupés dans le tableau 16.

On constate, dans le cas des cheveux après incubation arsenicale et hydrolyse la présence :

- de la bande de l'arsenic minéral.
- d'une bande de rf 0,12 donnant une coloration positive à la ninhydrine et qui semble de même rf que témoin cystéïne-^{74}As.
- une bande 0,18-0,20, donnant également une coloration positive à la ninhydrine (orangée) et qui pourrait correspondre à un dérivé d'oxydation de la cystéïne.

Par ailleurs, nous avons chromatographié systématiquement les différents hydrolysats provenant des cheveux traités préalablement par HCl. On constate, dans le cas d'HCl 60 % l'existence d'une bande de rf 0,12 comme précédemment, de même il persiste la bande à 0,20.

Par contre, la bande correspondant à l'arsenic minéral : rf 0,45 - 0,50 présente dans le cheveu seulement épuisé à l'eau, a complètement disparu.

Si l'on examine les chromatogrammes de cheveux hydrolysés après traitement par des concentrations d'acides inférieures à 60 %, on voit disparaître progressivement la bande minérale en fonction des concentrations.

TABLEAU 16

CHROMATOGRAPHIES en PARTRIDGE BIPHASIQUE : Rf décelés.					
Témoins			Hydrolysats pancréatiques à pH 8,4		
Solution ^{74}As		Cystéine marquée	Cheveu préalablement lavé à		
avant incubation	après		l'eau	HCl 60 %	
	0,12	0,11 - 0,13	0,12	0,13	
			0,18 - 0,20	0,20	
0,45-0,50	0,45-0,50		0,45 - 0,50		

Nous avons également étudié, par comptage de la radioactivité, la répartition de l'arsenic le long du cheveu en le découpant en petits fragments de la racine à l'extrémité. Nous avons pu constater que celle-ci était homogène.

II - Arsenic V

Un protocole expérimental identique a été appliqué pour l'arsenic pentavalent ; nous avons utilisé cette fois, une solution d'arséniate de sodium marquée à ^{74}As sous atmosphère d'oxygène.

Par les mêmes méthodes que précédemment, nous avons déterminé la fixation de l'arsenic V par le cheveu après incubation de 48 jours.

Nous avons cependant fait dans ce cas une double expérience en ne maintenant que la moitié de la mèche immergée dans la solution arsenicale.

Nous avons trouvé, pour une dose initiale de 1,5 mg d'arsenic dans le bain d'incubation une dose de 0,500 mg fixé sur les cheveux immergés (10 g) soit 33 %, et une dose de 0,290 mg fixée sur les cheveux non immergés (10 g) soit 19,5 %.

En résumé, dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placés, nous avons constaté que la fixation d'arsenic exogène par le cheveu était particulièrement importante, soit pour As III, soit pour As V qu'il ne paraissait par s'agir d'un phénomène d'adsorption, que le lavage par les solutions d'acide chlorhydrique, même concentrées ne parvenait que très difficilement à libérer l'arsenic fixé, qu'il y avait une très grande probabilité pour une liaison organique de l'arsenic avec le cheveu lui-même. La chromatographie est en faveur du complexe arsenic-cystéine.

Comme le montre ces expériences in vitro, il est donc assez aisé de faire pénétrer de l'arsenic dans le cheveu par voie exogène.

Il en est de même in vivo par voie endogène, mais le processus de fixation n'est certainement pas semblable et peut-être est-il possible de différencier l'arsenic endogène de l'arsenic exogène.

Ce problème de la différenciation analytique de l'arsenic exogène et de l'arsenic endogène a soulevé de nombreuses controverses. Il nous a paru également intéressant d'utiliser un isotope radioactif de l'arsenic pour connaître son devenir.

Nous avons utilisé l'arsenic 74 comme précédemment et intoxiqué chroniquement des rats mâles, de souche WISTAR, d'un poids moyen de 200 g. par une injection journalière de 1 ml d'une solution renfermant 100 µg d'arsenic stable et 10 µcuries de ^{74}As. Ces injections ont été poursuivies pendant sept semaines et nous avons utilisé la radioactivité des poils pour apprécier la fixation et la concentration en arsenic à ce niveau.

Notre expérimentation a porté sur différents lots de rats :

Série A :

1° lot : 90 rats recevant une injection quotidienne de ^{74}As (10 µc) et d'arsenic stable (100 mg).

2° lot : 90 rats recevant une injection quotidienne de ^{74}As (10 µc).

12 rats de chacun de ces lots sont tués chaque semaine. Les premiers, huit jours après la première injection, les derniers au terme de la septième semaine.

Série B :

Identique à la précédente. Les rats du 1° lot recevant 10 µc de ^{74}As et 50 mg d'arsenic stable.

Série C :

Même protocole que la série A. Les rats du 1° lot ont 10 µc de ^{74}As + 10 mg d'arsenic stable.

Série D :

Mêmes conditions expérimentales,mais avec 10 µc de ^{74}As et 1 mg d'arsenic stable.

Lors du sacrifice des rats de chacune des quatre séries, on opère les prélèvements suivants :

- poils à la tondeuse sur le dos de l'animal.
- sang sur héparine au niveau de l'artère rénale.
- foie.
- rate.
- rein.
- pancréas.

Et après pesée, la radioactivité de chaque échantillon est déterminée.

Nos résultats expérimentaux, quelle que soit la dose administrée, montrent :

1) - la radioactivité est immédiatement décelable dans le sang, qu'elle augmente pendant les cinq premiers jours, pour se stabiliser ensuite jusqu'au sacrifice de l'animal.

2) - on retrouve une quantité notable d'arsenic au niveau du rein et du foie dans les premières heures qui suivent la première injection de ^{74}As. La radioactivité décelée est pratiquement constante durant toute l'expérimentation.

3) - au niveau du poil, la radioactivité n'est décelable qu'au bout d'un certain nombre de jours, fonction de la dose administrée (Tableau 17).

Les rats recevant 100 mg d'arsenic 75 par jour, présentent un pelage radioactif au bout d'une dizaine de jours. La radioactivité va croissant avec le temps, mais il est difficile de maintenir en vie de tels rats, ceux-ci présentent en effet, rapidement les signes d'intoxication aigüe.

TABLEAU 17

FIXATION de l'ARSENIC par 1 g. de poils en impulsions/minute.			
	Doses d'arsenic stable injectées quotidiennement au rat.		
	100 mg	50 mg	10 mg
1 semaine	790	150	100
2 "	940	600	510
3 "	2.830	940	550
4 "	3.180	1.450	600
5 "	3.240	2.100	660

Les rats recevant 50 mg se prêtent mieux à ce type d'expérience. Nous avons constaté que l'apparition d'une radioactivité mesurable (de l'ordre de 300 imp/mn dans nos conditions de comptage) était assez tardive, et qu'il fallait au minimum 15 jours d'intoxication pour pouvoir la déceler dans une prise d'essai de l'ordre de 200 mg de poils.

Cependant à partir de ce moment (15 - 18 jours), l'imprégnation arsenicale du poil augmente rapidement et au bout de sept semaines (environ 3 périodes) elle est assez importante.

Chez les animaux recevant des quantités inférieures à 50 mg, la mise en évidence est difficile, la radioactivité étant de l'ordre du bruit de fond.

Série E :

1° lot : 12 rats reçoivent une injection quotidienne de ^{74}As (10 µc) et d'arsenic stable (100 mg).

2° lot : 12 rats reçoivent une injection quotidienne de ^{74}As seulement.

Chaque semaine et durant sept semaines, on prélève sur le dos de ces animaux, à la tondeuse, une petite quantité de poils, afin d'en déterminer la radioactivité (Tableau 18).

Comme nous le voyons dans ces deux tableaux, l'arsenic se fixe fortement dans le poils et nous avons voulu voir, si avec la même méthode de gradient d'HCl que précédemment pour le cheveu, nous étions capables de libérer plus facilement l'arsenic d'origine endogène.

Pour cela, nous avons donc soumis un poids connu de poils à des solutions d'HCl de concentration croissante.

Nous sommes arrivés aux résultats suivants : (Tableau 19).

Comme on peut se rendre compte, ils sont superposables à ceux des expériences in vitro. Pour commencer à saisir une fuite d'arsenic du poil, il est nécessaire de le traiter avec des concentrations

TABLEAU 18

Moyenne des comptages effectués sur 10 g. de poils chez les 12 animaux en expérience.	
Durée du traitement	Radioactivité de 10 g. de poils.
15 jours	1.000 imp/mn.
20 jours	4.000 imp/mn.
28 jours	4.300 imp/mn.
40 jours	4.700 imp/mn.
60 jours	6.000 imp/mn.

TABLEAU 19

Traitement	Radioactivité (moyenne de 12 déterminations) imp/mn/10 g. de poils.
Eau	1.500
HCl 10 %	35.000
HCl 20 %	46.000
HCl 30 %	23.000
HCl 60 %	29.000
HCl 60 % à chaud.	47.000

d'HCl de l'ordre de 60 % et à chaud.

Ces poils ont été également soumis à l'hydrolyse pancréatique (trypsine ARMOUR-CHICAGO) à pH 8,4 dans les mêmes conditions techniques que précédemment, mais la radioactivité du chromatogramme n'a pas été suffisante pour fournir une interprétation valable.

Dans le cadre de ces expériences, il ne semble pas exister de différences notables du point de vue de l'élution, entre l'intoxication arsenicale et l'imprégnation "in vitro".

Il est, cependant, fort possible qu'il existe des différences secondaires celles-ci portant seulement sur les modalités de l'incorporation de l'arsenic dans les combinaisons organiques mais la preuve de cette assertion reste à apporter.

En conclusion, il semble cependant raisonnable de penser que la méthode utilisant ^{74}As donnera dans l'avenir la possibilité de saisir, dans son détail les différentes phases de la pénétration ou de l'imprégnation du toxique au niveau du cheveu ou du poil.

C O N C L U S I O N S

La première partie de notre travail est une revue générale des différentes méthodes de détection et de dosage de l'arsenic. Pour les principales, nous avons, au moyen de l'arsenic74 étudié leur rendement.

La technique de MARSH, ne fournit dans les meilleures conditions qu'une appréciation semi-quantitative, celle de CRIBIER présente, du point de vue de la quantité d'hydrogène arsénié dégagé à partir de l'arsenic, un bilan déficitaire, puisque le rendement de l'opération n'est jamais supérieur à 35 % environ ; mais son caractère de méthode comparative permet dans certaines conditions expérimentales précises de s'affranchir de cet inconvénient.

L'étude du bilan fourni par la technique de MARTIN & FLORET (96 - 98 %) nous a permis d'apporter certaines modifications au dosage de CRIBIER : par exemple lorsque celui-ci est effectué à chaud, les rendements obtenus sont toujours supérieurs à 90 %.

La méthode de CORDEBARD s'est révélée excellente pour l'extraction de l'arsenic (grâce à la formation quantitative d'arséniure cuivreux), mais son point faible, semble être représenté par la réaction céruléo-molybdique. Le remplacement de celle-ci par l'utilisation du cuivre 64 apportera certainement une grande amélioration et une augmentation notable de sa sensibilité.

Enfin, dans la dernière partie, sont rapportées les expériences concernant la pénétration d'arsenic, soit par voie endogène, soit par voie exogène. Dans les deux cas, l'arsenic se fixe au niveau des

phanères, poils et cheveux, contractant avec ceux-ci des liaisons organiques particulièrement solides du type cystéine-arsenic. La libération d'arsenic, à partir du cheveu ou du poil peut être effectuée partiellement par traitement à l'acide chlorhydrique concentré chaud, mais il ne semble pas qu'il y ait actuellement, par ce moyen, une possibilité de différenciation entre l'arsenic exogène et endogène.

B I B L I O G R A P H I E

1 - Affaire des vins empoisonnés d'Hyères - Ann. Hyg. - 20, 348.

2 - ALLCROFT (R.) & GREEN (H.) - Biochem. J. (1935), 29, 824.

3 - ALLEN (A.H.) - The Analyst - (1901), 26, 10.

4 - ANDERSON (C.W.) - Ind. Eng. Chem., anal. Ed. (1937), 9, 569.

5 - ANDREWS (L.) & FARR - Zeit. J. Anorg. Ch. (1909), 62, 124.

6 - ASTON (F.W.) - Nature - (1920), 120, 956.

7 - ASTON (F.W.) - Nature - (1920), 105, 547.

8 - ASTON (F.W.) - Phil. Mag. (1920), 40, 628.

9 - AUDIBERT (M.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Bordeaux - (1965).

10 - BAMBACH (K.) - Ind. Eng. Chem. (1942) 14, 265.

11 - BARTHE (L.) - Toxicologie chimique - Paris - Vigot Frères Ed. (1918) p. 127.

12 - BARTHE (L.) & MASSY (R.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. (1926), 64, 66.

13 - BAYERLE (V.) - Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. (1925), 44, 514.

14 - BERTIN (Ch.) - Ann. Fals. et Fraudes. (1926), 64, 66.

15 - BERTHELOT - Collection des anciens alchimistes grecs - Paris. (1887-1888), 2, 49.

16 - BERTON (A.) - Bull. Soc. Chim. Fr. (1945), 12, 286.

17 - BERTRAND (G.) - Bull. Soc. Chim. Fr. (1902), 27, 852.

18 - BERTRAND (G.) - Ann. Chim. Phys. (1903), 7° série 29, 249.

19 - BERTRAND (G.) - C.R. Acad. Sci. (1903), 137, 266.

20 - BERTRAND (G.) - Ann. Ch. Pharm. (1903), 29, 270.

21 - BERTRAND (G.) - Ann. Inst. Pasteur. (1903), 17, 1.

22 - BERZELIUS - Ann. Chim. Phys. (1817), 5, 174

23 - BERZELIUS - Ann. d. Chimie - (1844), 49, 253.

24 - BERZELIUS - Traité de Chimie Ed. française. (1846), 2.

25 - BETTENDORF - Z. f. Chem. (1869), p. 492.

26 - BIRD - The chemist and the druggist - (1900), 57, 1073.

27 - BIRD - Pharm. Journ. (1904), 19, 424.

28 - BIRKS (L.S.) - X-ray spectrochemical analysis - Interscience Ed. New-York. (1959).

29 - BLOXAM - Pharm. Journ. (1860), p.528.

30 - BORDAS (F.) - Ann. hyg. publ. et med. leg. (1901), 46, 97.

31 - BORDAS (F.) - Ann. Fals. et Fraudes. (1912), 5, 581.

32 - BOSC (A.C.) - Indian J. Med. Research - (1935), 22 n° 4, 697.

33 - BOUGAULT (J.) - J. Pharm. Chim. (1902), 6° série 15, 527.

34 - BOUGAULT (J.) - J. Pharm. Chim. (1903), 6° série 17, 97.

35 - BOUGAULT (J.) - J. Pharm. Chim. (1907), 6° série 25, 527.

36 - BOUGAULT (J.) - J. Pharm. Chim. (1907), 6° série 26, 13.

37 - BOUGAULT (J.) - J. Pharm. Chim. (1907), 6° série 26, 193.

38 - BRANDT (L.) - Chem. Zeit. (1913) 37, p. 1445, 1471 et 1496

39 - BRESSANIN - Gazz. Chim. Ital. (1912), tome 1.

40 - BRETEAU - J. Pharm. Chim. (1915), 7° série 12, 68

41 - BRUNO (A.) - Ann. Fals. et Fraudes. (Mars-Avril 1918), 113-114, 84.

42 - BRUSTIER (V.) - BOURBON (P.) & VIGNES (R.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1952), n° 4, 290.

43 - CARNOT (A.) - J. Pharm. Chim. (1895) 6° série 2, 126.

44 - CASTAGNOU (R.) & DAVID (P.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1944), 9, 26.

45 - CASTAGNOU (R.) & FAURE (J.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1952), 90, 90.

46 - CASTAGNOU (R.) & FAURE (J.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1953), 92, 169.

47 - CASTAGNOU (R.) & FAURE (J.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1953), 91, 115.

48 - CASTAGNOU (R.) - QUILICHINI (R.) & FAURE (J.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. (1953), 91, 115.

49 - CHAPMAN (A.C.) - The Analyst - (1926), 51, 548.

50 - CHARLOT (G.) & BEZIER (D.) - Analyse quantitative minérale - Masson Ed. Paris. (1955).

51 - CHATTERJI (D.N.), GANGULY (K.R.) & FARUQUI (M.Z.) - J. Indian Chem. Soc. (1936), 13 n° 12, 751.

52 - CHEFTEL (H.), JAULMES (P.), PRECEPTIS NGO HOAI, Mmes NOVAK & FRICHET. - Ann. Fals. et Fraudes - (1949) p. 425.

53 - CHEVALLIER (A.) - J. Ch. Médic. (1839).

54 - CHEVALLIER (A.) & BARSE (J.) - Manuel pratique de l'appareil de Marsh ou guide de l'expert toxicologique dans la recherche de l'antimoine et de l'arsenic - Labe Ed. Paris.

55 - CHEVALLIER (A.) - Manuel pratique de l'appareil de Marsh - (1843).

56 - CLARK (J.) - J. Chem. Soc. London. - (1893), 63, 886.

57 - CLARK (J.) - Zeitsch. fur analyt. Chemie - (1893) 39, 656.

58 - Codex Français - (Edition 1949), p. 1090.

59 - Codex Français - (Edition 1949) suppl. 1953 p. 60.

60 - CORDEBARD (H.) - Ann. Chim. Analyt. (1945), 27, 67.

61 - CORDEBARD (H.) - Ann. Chim. Analyt. (1946), 28, 24.

62 - CORDEBARD (H.) & LOUIS (L.) - Ann. Chim. Analyt. (1945), 27, 204.

63 - COWLEY & CATTFORD - Pharm. Journ. (1904), p. 897.

64 - CRIBIER (J.) - Thèse doctorat Pharmacie - Paris - Dieval Ed. (1921).

65 - CRIBIER (J.) - J. Pharm. Chim. (1921), 24, 241.

66 - CRISTAU (B.) - Trav. Soc. Pharm. Montpellier (1954), 14, 207.

67 - CRISTAU (B.) - Thèse doctorat état Pharmacie - Marseille - (1954).

68 - CRISTAU (B.) - Thèse doctorat université, mention Sciences - Marseille - (1958).

69 - CROSSLEY (H.E.) - J. Indian Chem, Soc. (1936), 55 n° 38, 272.

70 - DARNIAT - Thèse doctorat université Pharmacie - Lyon (1932).

71 - DAVIS (W.A.) & MALTBY (J.G.) - The Analyst - (1936), 61 n° 719, 96.

72 - DALE - Dissert. Abstr. U.S.A. - (1959), 20, 472.

73 - DELABY (R.) & GAUTIER (J.A.) - "Technique de HEFTI" - Analyse qualitative minérale de l'aide de still réactions - Masson 2° ed. Paris - (1950).

74 - DENIGES (G.) - Précis de chimie analytique - (1903), 2° ed. p. 651.

75 - DENIGES (G.) - Eléments métalloïdes - p. 185.

76 - DENIGES (G.) - C.R. Soc. Biol. (1905), 1, 783.

77 - DENIGES (G.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1908), p. 227.

78 - DENIGES (G.) - Procès verbaux de la Société des Sciences Physiques et Naturelles de Bordeaux - (Séance du 25 Février 1915), p. 30.

79 - DENIGES (G.) - C.R. Acad. Sci. - (1927), 184, 687.

80 - DENIGES (G.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1930), 68, 207.

81 - DENIGES (G.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1931), 69, 157.

82 - DEROBERT (L.) & MICHON (R.) - Soc. Med. Leg. - p. 131.

83 - DEWAR (W.A.) & LENIHAN (J.M.A.) - Scot. Med. J. - (1956), 1, 236.

84 - DOLIQUE (R.) - Nouveau traité de chimie minérale de PASCAL - Masson Ed. Paris (1958).

85 - DOMANGE (L.) - Mises au point de chimie analytique pure et appliquée, et l'analyse bromatologique- Masson Ed. Paris. (1953) 1° série.

86 - DOURIS (R.) - Toxicologie moderne - 2° ed., Vigot Ed. Paris.

87 - DOWZARD - The chimist and the druggist - (1900), 57, 921.

88 - DOWZARD - J. Chem. Soc. London - (1901), 79, 715.

89 - DRAGENDORFF - Manuel de toxicologie - Paris - F. Savy Ed. (1873).

90 - DRAGENDORFF - Manuel de toxicologie - 2° éd. française. (1886).

91 - DRAPER - Scientific American (1872).

92 - DULONG - Ann. Chim. Phys. (1816), 2° série, 2, 141.

93 - DUNSTAN & ROBINSON - Pharm. Journ. (1904), p. 381 et 426.

94 - DUMAS - Ann. Chim. Phys. (1826), 31, 433

95 - ENGEL (R.) - J. Pharm. Chim. - (1873), 4° série, 18, 10.

96 - ENGEL (R.) & BERNARD - J. Pharm. Chim. - (1896), 6° série, 3, 413.

97 - ENGEL (R.) & BERNARD - C.R. Acad. Sci. - (1896), 122, 390.

98 - ERLENMEYER - Zeitsch. fur Chem. und Pharm. (1862), p. 38

99 - EVANS (B.S.) - The Analyst - (1929), 54, 523.

100 - FABRE (R.) - Leçons de toxicologie - Hermann & Cie Ed. Paris - (1945), 9, 28.

101, - FABRE (R.) & Mme CISMARU - dans FABRE (R.), Leçons de toxicologie - (1945), 9, 69.

102 - FAUCHON (L.) - Thèse doctorat Pharmacie - Marseille (1937).

103 - FAURE (J.) - Thèse doctorat état Pharmacie - Bordeaux (1953).

104 - FLANDIN & DRANGER - L'institut - (1840-1841), p. 366.

105 - FLEURY (E.) - J. Pharm. Chim.-(1916), 7° série, 13, 385.

106 - FLEURY (E.) - J. Pharm. Chim. - (1920), 1, 385.

107 - FLUCKIGER - Arch. Pharm. - 3, 27 I.

108 - FOLIN (O.) & CIOCALTEU (V.) - J. Biol. Chem. - (1927), 73, 627.

109 - FONZES-DIACON - Ann. Med. Leg. - (1935), p. 793.

110 - FRESENIUS (R.) - Zeitschr. fur analyt.. Chemie I - 394.

111 - FRESENIUS (R.) - Traité d'analyse chimique qualitative - (1856) 9° ed.

112 - GADAMER - Livre de toxicologie classique - GÖTTINGER (1909).

113 - GAEBEL (O.) - Arch. Pharm.-(1911), p. 49.

114 - GALTIER (C.P.) - Traité de toxicologie médicale, chimique et légale - Chamerot Ed. - (1855), p. 313.

115 - GANDOLFO (N.) - C.R. Inst. Sup. Saneta - (1940), 11, 187.

116 - GARNIER & SCHLAGDENHAUFFEN - Ann. Hyg. Med. Leg. - (1887), 17, 30.

117 - GATEHOUZE - Chem. News. - (1873), 27, 139.

118 - GAUDY (F.) & ANTOLA (M.P.) - J. Pharm. Chim. - (1938), 27, 165 et 408.

119 - GAUTIER (A.) - Ann. Chim. Phys. - (1876), 5° série, 8, 401.

120 - GAUTIER (A.) - Ann. Chim. Phys. - (1876), 5° série, 8, 408.

121 - GAUTIER (A.) - C.R. Acad. Sci. - (1903), 137, 158.

122 - GAUTIER (A.) - C.R. Acad. Sci. - (1903), 137, 137 et 232.

123 - GAUTIER (A.) - C.R. Acad. Sci. - (1904).

124 - GEMMEL (G.H.) - Pharm. Journ. - (1901), 1, 280.

125 - GOETTE & HATTEMER (J.A.) - Z. Naturforsch. (1955), 10, 343.

126 - GOSIO - Rivista d'Hygiène e Sanita - (16 Mai 1898).

127 - GOUEZO (F.) - Thèse doctorat état Pharmacie - Marseille - (1960).

128 - GRAHAM - Ann. Chim. Phys. - (1862), 65, 194.

129 - GRIFFON (H.) - J. Med. Bordeaux - (1957), 134, 659.

130 - GRIFFON (H.) - Ann. Pharm. franç. - (1955), 13, 258.

131 - GRIFFON (H.) & BARBAUD (J.) - Ann. Pharm. franç. - (1951), 9 n° 910, 545.

132 - GRIFFON (H.) & BARBAUD (J.) - C.R. Acad. Sci. - (1951), 232, 1455.

133 - GRIFFON (H.) & BUISSON (M.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1931), 1, 815.

134 - GRIFFON (H.) & BUISSON (M.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1933), 4° série, 53, 1548.

135 - GRIFFON (H.) & BUISSON (M.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1934), 5° série, 1, 815.

136 - GRIFFON (H.) - DEROBERT (L.) & CLAVELIN (P.) - Ann. Med. Leg. - (1941) n° 4, 165.

137 - GRIFFON (H.) & LE BRETON (R.) - J. Med. Bordeaux - (Mai 1957), n° 5, 776.

138 - GRIFFON (H.) & THURET (J.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1938), 5° série, 5, 1129.

139 - GROS (A.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1941), 8, 520.

140 - GUTZEIT (G.) - Pharm. Zeit. Bunzlau - (1879), p. 263.

141 - HAGER - Pharm. Zentrh.- (1884), p. 265.
et (1886), p. 338.

142 - HAIGHT (G.P.) - Anal. Chem. - (1954), 26, 593.

143 - HARISPE (J.V.) - J. Pharm. Chim. - (1939), 30, 58.

144 - HEFTI - Inaug. Dissert. Zurich. - (1907).

145 - HEYROVSKY (J.) - Chem. Listy - (1922), 16, 256.

146 - HEYROVSKY (J.) - Philosophical magazine - (1923), 45, 303.

147 - HEYROVSKY (J.) - Trans. Faraday Soc. - (1924), 19, 692.

148 - HEYROVSKY (J.) - C.R. Acad. Sci. - (1924), 179, 1044 et 1267.

149 - HEYROVSKY (J.) - Act. Sci. Ind. - Hermann & Cie. Ed. - Paris - (1934), n° 90.

150 - HEYROVSKY (J.) - Polarographie - J. Springer Ed. Vienne - (1941).

151 - HEYROVSKY (J.) - Polarographister Pratikum - J. Springer Ed. Berlin - (1948).

152 - HOFFMANN - Annalen der Chem. u. Ph. - (1860), 115, 286.

153 - HOW (A.E.) - Ind. Eng. Chem. - (15 Avril 1938), p. 226.

154 - HURIEZ (Cl.) - DESMONS (F.) - BENOIT (P.) - BAELDEN (J.) & Mme DELGATTE. - Arch. Belges Dermat. Syphil. - (1956), 11, n° 3-4, 218.

155 - JADIN (E.) & ASTRUC (A.) - J. Pharm. Chim. - (1912), 7° série, 5, 233.

156 - JADIN (E.) & ASTRUC (A.) - J. Pharm. Chim. - (1912), 7° série, 6, 529.

157 - JADIN (E.) & ASTRUC (A.) - Ann. Fals. et Fraudes - (1913), p. 306.

139 - GROS (A.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1941), 8, 520.

140 - GUTZEIT (G.) - Pharm. Zeit. Bunzlau - (1879), p. 263.

141 - HAGER - Pharm. Zentrh.- (1884), p. 265.
et (1886), p. 338.

142 - HAIGHT (G.P.) - Anal. Chem. - (1954), 26, 593.

143 - HARISPE (J.V.) - J. Pharm. Chim. - (1939), 30, 58.

144 - HEFTI - Inaug. Dissert. Zurich. - (1907).

145 - HEYROVSKY (J.) - Chem. Listy - (1922), 16, 256.

146 - HEYROVSKY (J.) - Philosophical magazine - (1923), 45, 303.

147 - HEYROVSKY (J.) - Trans. Faraday Soc. - (1924), 19, 692.

148 - HEYROVSKY (J.) - C.R. Acad. Sci. - (1924), 179, 1044 et 1267.

149 - HEYROVSKY (J.) - Act. Sci. Ind. - Hermann & Cie. Ed. - Paris - (1934), n° 90.

150 - HEYROVSKY (J.) - Polarographie - J. Springer Ed. Vienne - (1941).

151 - HEYROVSKY (J.) - Polarographister Pratikum - J. Springer Ed. Berlin - (1948).

152 - HOFFMANN - Annalen der Chem. u. Ph. - (1860), 115, 286.

153 - HOW (A.E.) - Ind. Eng. Chem. - (15 Avril 1938), p. 226.

154 - HURIEZ (Cl.) - DESMONS (F.) - BENOIT (P.) - BAELDEN (J.) & Mme DELGATTE. - Arch. Belges Dermat. Syphil. - (1956), 11, n° 3-4, 218.

155 - JADIN (E.) & ASTRUC (A.) - J. Pharm. Chim. - (1912), 7° série, 5, 233.

156 - JADIN (E.) & ASTRUC (A.) - J. Pharm. Chim. - (1912), 7° série, 6, 529.

157 - JADIN (E.) & ASTRUC (A.) - Ann. Fals. et Fraudes - (1913), p. 306.

158 - JAULMES (P.) - Thèse doctorat Sciences Physiques - (1932), Montpellier.

159 - JAULMES (P.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1937), 5° série, 4, 158.

160 - JAULMES (P.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1942), 9, 236.

161 - JAULMES (P.) - Trav. Soc. Pharm. - Montpellier - (1949), 9, 34.

162 - JAULMES (P.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1949), p. 203.

163 - JAULMES (P.) - Analyse des vins - Montpellier - Poulain 2° ed. (1951).

164 - JAULMES (P.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1952), 90, 281.

165 - JAULMES (P.) & RIVEMALE (Y.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1940), 7, 68.

166 - JAULMES (P.) & TURPIN - Trav. Soc. Pharm. - Montpellier - (1948), 7, 85.

167 - JOHNSON - J. Pharm. Chim. - (1887), 16, 535.

168 - JOLIOT CURIE (F.) & SAVEL (J.) - d'après CASTAGNOU (R.) - Cours de toxicologie - Faculté de Médecine & Pharmacie Bordeaux - (1964).

169 - JONES (A.J.) - Pharm. J. - (1922), 109, 86.

170 - KACIRKOVA (K.) - Coll. Czech. Chem. Comm. - (1929), 1, 477.

171 -- KENDALL (A.D.) & GRANATELLI (L.) - Anal. Chem. - (1959), 31, 1593.

172 - KESSLER - Poggendorff's annal. - (1861), p. 113.

173 - KIRKBY - Pharm. Journ. - (1901), 12, 80.

174 - KIRKBY - Pharm. Journ. - (1904), 19, 417.

175 - KLING - Chimie et Industrie - (Août 1920).

176 - KOHN-ABREST (E.) - Ann. Fals. et Fraudes. - (1912), p. 385.

177 - KOHN-ABREST (E.) - C.R. Acad. Sci. - (1920).

178 - KOHN-ABREST (E.) - Traité de Chimie toxicologique - Tome 1, p. 557. Paris, Doin Ed. (1924).

179 - KOHN-ABREST (E.) - Ann. Fals. et Fraudes. - (Nov. 1935), 28, n° 323, 537.

180 - KOHN-ABREST (E.) - Ann. Fals. et Fraudes. - (1951), 44, 13.

181 - KOHN-ABREST (E.) - Précis de toxicologie - Doin Ed. - 3° ed. Paris, (1955.)

182 - KOHN-ABREST (E.) - Ann. Fals. et Fraudes - (1956), 49, 407.

183 - KOHN-ABREST (E.) - Anal. Abstr. (1957), 4 n° 1297.

184 - KOLTHOFF (I.M.) & AMDUR (E.) - Ind. Eng. Chem., anal. Ed. - (1940), 12, 177.

185 - KOLTHOFF (I.M.) & LINGANE (J.J.) - Polarography 2° ed. Interscience publishers - New-York. London. - Tome 2, p. 542.

186 - LAMBERT (A.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Bordeaux - (1920).

187 - LANGLOIS (J.) & MORIN (Ch.) - Bull. Sc. Pharm. - (1938), 45 n° 12, 482.

188 - LANGMUIR - J. Amer. Chem. Soc. - (1899), 21, 133.

189 - LASSAIGNE - J. Chim. Med. - (1832), 8, 584.

190 - LAVAUX (J.) - "Arsenic" - Traité de chimie minérale de PASCAL - Masson & Cie Ed. Paris - Tome III - (1932).

191 - LECLERE - Rep. Pharm. - (1912), p. 37.

192 - LENIHAN (J.M.A.) & SMITH (H.) - Proc. 2 Conf. Peaceful Uses Atomic Energy - Genève A/ Conf. 15 P/69 - (1959).

193 - LEONARDON - Thèse Pharmacie - Paris - (1924).

194 - LEONARDON & DELEPINE - Bull. Sc. Pharm. - (1924), 31, 193.

195 - LE PEINTRE (M.) - 26° Congrès de Chimie Industrielle - (1953).

196 - LE PEINTRE (M.) & OLIVIER (H.R.) - 25° Congrès de Chimie Industrielle (1952).

197 - LE PEINTRE (M.) & OLIVIER (H.R.) - C.R. Acad. Sci. - (1955), 240, 923.

198 - LE PEINTRE (M.) & OLIVIER (H.R.) - C.R. Acad. Sci. - (1955), 240, 754.

199 - LESCHKE (E.) - Clinical toxicology (The Gloucester séries) - J. & A. Churchill - London - p. 70, (1934).

200 - LESPAGNOL (A.) - MERVILLE (R.) & Melle WERQUIN - Bull. Soc.Chim. Fr. (1943), 10, 378.

201 - LESPAGNOL (A.) - MERVILLE (R.) & Melle WERQUIN - Bull. Soc. Chim. Biol. - (1943), 25, 322.

202 - LESPAGNOL (A.) - MERVILLE (R.) & Melle WERQUIN - C.R. Soc. Biol. - (1943), 137, 520.

203 - LETHEBY - Chem. Gazette - 4, 137.

204 - LINARD (P.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Lyon - (1930).

205 - LINGANE (J.J.) - Ind. Eng. Chem. - (1943), 15, 583.

206 - LINGANE (J.J.) - Ind. Eng. Chem. - (1944), 16, 147.

207 - LINGANE (J.J.) - Anal. Chem. - (1949), 21, 45.

208 - LINGANE (J.J.) - Anal. Chem. - (1951), 23, 86.

209 - LIPPERT (G.) - J. Prakt. Chem. - (1860), 81, 168.

210 - LOBELLO - Bollettino chimico farmaceutico - (1905), p. 445.

211 - LOCKEMANN - Z. f. Angew. Chem. - (1905) p. 429 et 491.

212 - LOUIS (L.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Société d'Impressions typographiques - Nancy (1946).

213 - LUCAS (A.) - "Ancient Egyptian materials and industries - Londres. (1924), p. 292.

214 - MARCELET (H.) - Bull. Soc. Pharm. - Lille - (1913), 20, 271.

215 - MARSH (R.) - The Edinburgh new Philosophical journal - (1836).

216 - MARSH (R.) - Journ. Ph. et Ch. (Traduction française) - (1837), 23, 553.

217 - MARTIN (F.) & FLORET (A.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1965), p. 404.

218 - MARTIN & PIEN - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1930), 47, 646.

219 - MAYENCON & BERGERET - C.R. Acad. Sci. - (1874), 79, 118.

220 - MAYRAND (L.P.) - J. Amer. Pharm. Assoc. - (1931), 20, 632.

221 - MEILLERE (G.) - J. Pharm. Chim. - (1913), 7° série, 7, 425.

222 - MICHON (R.) - Ann. Med. Leg. - (1954), 34 n° 2, 92.

223 - MICHON (R.) - Ann. Fals. et Fraudes. - (1956), 49, n° 570, 284.

224 - MICHON (R.) & LE BRETON (R.) - Ann. Med. Leg. - (1954), 34 n° 3, 140.

225 - MORETTE (M.) - Ann. Pharm. franc. - (1953), 11, 361.

226 - MORRISSON (J.I.) - J. Of. AOAC - (1961), 44, 740.

227 - NAQUET - Précis de chimie légale - Savy Ed. Paris (1873).

228 - NIER (A.O.) - Physical Rev. - (1937), 52, 933.

229 - OGIER (J.) & KOHN-ABREST (E.) - Traité de chimie toxicologique - 2° éd. - Paris - Doin Ed. (1924), Tome 1, p. 594.

230 - OLIVIER (H.R.) - Bull. Soc. Chim. Biol. - (1954), 36, 695.

231 - ORFILA (M.) - C.R. Acad. Sci. - (1841), 12, 1093.

232 - ORFILA (M.) & COUERBE - J. Chim. Med. - (1839), 5, 462 et 632.

233 - ORFILA (M.) & l'Affaire LAFARGE - Leçon inaugurale du Pr. BALTHAZARD - Paris médical - (22 Nov. 1919).

234 - PIEDELIEVRE (R.) & DEROBERT (L.) - Ann. Med. Leg. - (1953), n° 3, 148.

235 - PFISTER (A.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Marseille - (1955).

236 - Pharmacopée des Etats-Unis d'Amérique -(Edition 1916).

237 - Pharmacopée des Etats-Unis d'Amérique - U.S.P. XV - (1955).

238 - Pharmacopée Britannique - Bristish pharmacopoeia (1953).
- Bristish pharmaceutical codex (1954).

239 - Pharmacopée Internationale - O.M.S. - Tome I, p. 308. (1951).

240 - Pharmacopée Internationale - O.M.S. - Tome 2, p. 252. (1955).

241 - PLINE l'ANCIEN - Natural history - Traduction par BOSTOCK & RILEY. Geo Bell & Fils Ed. - Londres. (1856).

242 - PLUCHON (J.P.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Marseille - (1936).

243 - POLJAKOW (A.) & KOLOKOLOW (N.) - Biochem. Zeits. - (1929), 213, 375.

244 - POWERS-RONALD (G.) & MARTIN-PIERL (J.F.) - Anal. Chem. - (1959), 31, 1589.

245 - REBOUL (J.A.) - J. Phys. Rad. - (1940), 1, 56.

246 - REICHARDT (E.) - Arch. der Pharm. - (1880).

247 - REICHARDT (E.) - J. Pharm. Chim. - (1881), 5° série, 3, 247.

248 - REINSCH (H.) - J. Prakt. Chem. - (1838), 13, 134.

249 - REINSCH (H.) - J. Prakt. Chem. - (1841), 24, 244.

250 - REINSCH (Méthode de) - Zeitschr. fur analyt. Chem. - (1862), 1, 220.

251 - REINSCH (Méthode de) - Zeitschr. fur analyt. Chem. -(1864), 3, 206.

252 - REINSCH (Méthode de) - Zeitschr. fur analyt. Chem. - (1866), 5, 202.

253 - REINSCH (Méthode de) - Zeitschr. fur analyt. Chem. - (1900), 39, 657.

254 - REINSCH (Procédé de) - J. Pharm. Chim. - (1901), 13, 341.

255 - REMENEC - Chem. Listy - (1936), 30, n° 7-8, 96

256 - RIVEMALE (Y.) - Thèse en vue du Diplôme supérieur de Pharmacien. - Montpellier - Imprimerie de la Charité - (1939).

257 - ROSE - Poggendorff's annal. - 90, p. 565.

258 - ROSENTHALER (L.) & BECK (G.) - Pharm. Acta Helv. - (1937), 12, 91.

259 - SANGER - Amer. Chem. Journ. - (1891), 13, 431.

260 - SANGER - Zeitschr. fur analyt. Chemie. - (1899), 38, 137 et 377.

261 - SANGER & BLACK - J. Indian Chem. Soc. - 26, 1115.

262 - SANGER & BLACK - Le moniteur scientifique - (1909), p. 112.

263 - SEGALE - J. Pharm. Chim. - (1904), 6° série, 20, 418.

264 - SEMERANO (G.) - Il polarographo sua teoria e applicazioni - A. Draghi Ed. - Padova - (1933).

265 - SENTENAC-ROUMANOU (H.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Bordeaux (1964).

266 - SMALES (A.A.) & PATE (B.D.) - The Analyst - (1952), 77, 196.

267 - SMALES (A.A) & PATE (B.D.) - Anal. Chem. - (1952), 24, 717.

268 - SMALES (A.A.) & PATE (B.D.) - The Analyst. (1952), 77, 155.

269 - SMITH (H.) - Anal. Chem. - (1959), 31, 1361.

270 - SMITH & CAMERON - Boll. Soc. Philomath.-(1933), 116, 27

271 - SNIJDERS (C.J.) & VAN der DRIFT (A.W.) - Chem. Weekblad. (1935), 32, 275.

272 - SOUBEIRAN - Ann. Chim. Phys. - (1830), 43, 407.

273 - SUE (P.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - (1951), 18, D9.

274 - SYDNEY SMITH - Forensic medecine - J.& A. Churchill Ed. London - (1947), 8°ed. p. 467.

275 - TASSILY (E.) & LEROIDE (J.) - Bull. Soc. Chim. - (1911), 9, 63.

276 - TAYLOR (A.S.) - British and Foreign Medical Review - (1843), p. 275.

277 - TAYLOR (A.S.) - Traité de toxicologie - (1863).

278 - TAYLOR (A.S.) - Die Gifte in Guerichtlich Medicinischer Beziehung. Edition Allemande. (Cöln, Aurel Frühbuss). - (1863), 2, 257.

279 - THIELE (J.) - Bull. Soc. Chim. Fr. - 8, p. 251.

280 - THIELE (J.) - Liebig's Ann. d. Chem. - (1891), 265, p. 55.

281 - THOMAS (F.), SEBRUYNS (M.) & CUVELIER-BLYAU (B.V.J.) - Ann. Med. Leg. - (1946), 26, 67.

282 - THORAL (L.) - Thèse doctorat université Pharmacie - Lyon - (1925).

283 - THORPE (T.E.) - Proc. Chem. Soc. - 1903, 19, 183.

284 - TREADWELL (F.P.) - Manuel de chimie analytique. - Paris - Dunod Ed. (1934), 2, 198.

285 - THOMPSON (R.C.) - A dictionary of Assyrian Chemistry and Geology - Oxford - (1935), 46, 47.

286 - TRUFFERT - Ann. Fals. et Fraudes. - (Fev. Mars. (1938), p. 73.

287 - TRUHAUT (R.) - "L'arsenic en toxicologie criminelle. Méthodes de dosage, causes d'erreur, interprétation des résultats". - Science et Vie - (1953).

288 - TRUHAUT (R.) - Résultats obtenus dans des expérimentations effectuées à l'occasion d'une expertise médico-légale. - (1955 - 1962).

289 - THURET (J.) - Thèse doctorat université Sciences. - Paris - (1937).

290 - THURET (J.) - J. Pharm. Chim. (1937), 8° série, 26, 18.

291 - VALEUR - Thèse agrégation - (1904).

292 - Van ITALLIE (L.) - Pharmac. Weekbl. - (1932), 69, 1134.

293 - Van ITALLIE (L.) - Pharmac. Weekbl. - (1932), 69, 1145.

294 - Van ITALLIE (L.) - Pharm. Monatsh. - (1932), 13, 220.

295 - Van ITALLIE (L.) - J. Pharm. Chim. - (1937), 26, 289.

296 - Van ITALLIE (L.) - J. Pharm. Chim. - (1937), 25, 97.

297 - VASAK-SEDIVEK - Chem. Abstr. - 47, 67.

298 - VASAK-SEDIVEK - Chem. Listy. - (1952), 46, 341.

299 - VERDIER (E.T.) - Les principes et les applications de la méthode polarographique d'électroanalyse. - Act. Sci. Ind. Hermann Ed. - Paris - (1943), n° 958.

300 - VIGNOLI (L.) - CRISTAU (B.) & GOUEZO (F.) - Bull. Soc. Pharm. - Marseille - (1959), 8, n° 28, 33.

301 - VIGNOLI (L.) - CRISTAU (B.) & PFISTER (A.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1955), 94, 61.

302 - VIGNOLI (L.) - CRISTAU (B.) & PFISTER (A.) - Chim. Anal. - (1956), 38, 392.

303 - VITTE (G.) & ROBILLARD (A.) - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux - (1946), 84, 90.

304 - WARD - The Analyst - (1926), 51, 457.

305 - WERTHER - J. Prakt. Chemie - (1861) - 82 , 286.

306 - WILLCOX (W.) - Trans. Med. Leg. Soc. - 16, 185.

307 - ZINZADZE (C.) - Ind. Eng. Chem. analyt. Ed. - (1935), 7, n° 4, 230.

ARTICLES POUVANT ETRE EGALEMENT CONSULTES

1 - ADAMS (F.) & HOSTE (J.) - Talanta (G.B.)-1963 - 10 ,1093.

2 - ANONYME - " En marge des empoisonnements à l'arsenic : la pile atomique, auxiliaire de la justice" - Atomes - (1953) 8, 75.

3 - ARMSTRONG (A.A.) & RUTHERFORD (H.A.) - N.C.S.C. N° 2477 - 1962 - 93pp.

4 - BLANCHARD (R.L.), LEDDICOTTE (G.W.) & MOELLER (D.W.) - Proc. 2nd Intern. Conf. Paeceful uses atomic energy , Genève, (1958) - 28 , 511.

5 - BROOKSBANK (W.A.) , LEDDICOTTE (G.W.) & MAHLMAN (H.A.) - O.R.N.L. N° 1474 - (1953).

6 - CALI (J.P.), LOWE (L.F.) , REILLY (E.M.) & THOMPSON (H.D.)- ERD - CRRC - TM. 57/103 - (1957) , 29 pp.

7 - CIFKA (J.) & MELICHAR (Z.) - Collect. Czecholov. Chem. communic. (1961) - 26 , 1403.

8 - FLETCHER (E.) - " Arsenic in biological materials " - New York Academic Press - (1961).

9 - FORSHUFVUD (S.), SMITH (H.)& WASSEN (A.) - Nature - (1961)- 192 , 103.

10 - FUKAI (R.) - A.E.C.U. N° 3887 - (1958) p. 67 .

11 - FUKAI (R.) - Abstr. paper third Japan Conf. on Radioisotopes, Japan Atomic Industrial forum, Inc. and Japan Radioisotope Association - TOKYO (1959) Communic. N° 59.

12 - FUKAI (R.) & MEINKE (W.W.) - Nature (1959) - 184, 815.

13 - FUKAI (R.) & MEINKE (W.W.) - Limnol. and Oceanog. -(1962) 7,186;

14 - HAMAGUCHI (H.) , KURODA (R.) & HOSOHARA(K.) - J. Atomic energy soc. Japan - (1960) - 2 , 317.

15 - HAMAGUCHI (H.), KURODA (R.) & HOSOHARA (K.) - Nippon Genshiryoku Gakkaishi -(1960) - 2, 317.

16 - HERMAN (M.A.) & WIKTOR (T.J.) - Bull. agricol. Cong. Belge - (1960) - 51, 403.

17 - JERVIS (R.E.) - Chem. in Can. - (1956) - 8, 27.

18 - JERVIS (R.E.), MACKINTOSH (W.D.) , KERR (M.F.) & PERKONS (A.K.) - Proc. 1961 Intern. Conf. on Moder Trends in Activation Analysis - (19-1) - p. 107.

19 - KAISER (D.G.) - Dissertation abstr. (1962) - 22 , 3616.

20 - KAMEMOTO (Y.) & YAMAGISHI (S.) - B. Chemical society of Japan - (1963) - 36, 132.

21 - LEDDICOTTE (G.W.) , BATE (L.X.) , MULLINS (W.T.) & EMERY (J.F.) - O.R.N.L. N° 2453 - (1958).

22 - LEDDICOTTE (G.W.) , OLIVER (J.H.) , DAVIDSON (C.D.) & WESTERDAHL (P.S.) - O.R.N.L. N° 1129 - (1952).

23 - LENIHAN (J.M.A.) , SMITH (H.) , CHALMERS (J.G.) - Nature - (1958) - 181,1463.

24 - MACKINTOSH (W.D.) & JERVIS (R.E.) - C.R.D.C. 958 , A.E.C.L. 1083 - (1960) - 14 pp.

25 - Mc SPEDDEN-DALE (B.) - Disser. Ohio State Univ. Colombus (1954) - 59 pp.

26 - Mc SPEDDEN-DALE (B.) - Disser. Abstr. -(1959)- 20 , 472.

27 - MEINKE (W.W.) - Limnol. Oceanog. - (1962) - 7 , 186.

28 - NEGINA (V.R.) , ZAMIATNINA (V.) & EGOROVA (A.A.) - Radiokhimiya-(1963) - 5, 270.

29 - NIXON (G.S.) - Disser. Univ. Glasgow - (1959)

30 - NIXON (G.S.) & SMITH (H.) - J. Dental research - (1960)- 39, 514.

31 - OGBORN (R.E.) , DUNN (A.L.) , BLOTCKY (A.J.) , JOHNSON (G.F.) & JAMES (L.R.) - Amer. J. Roentgenol. Radium Therapy Nuclear Med. - (1961) - 85, 976.

32 - REBOUL (J.) - C.R. Acad. Sci. - (1933) - 196,1557.

33 - REBOUL (J.) - C.R. Acad. Sci. - (1936) - 202 , 1920.

34 - REBOUL (J.) - C.R. Acad. Sci. - (1937) - 205, 789.

35 - REBOUL (J.) - Thèse Sciences - Paris -(1938).

36 - REBOUL (J.) - Annales Physique - (1939).

37 - SAVEL (P.) - Ann. Pharm. Fr. (1963) - 21, 303.

38 - SHIPMAN (G.F.) & MILNER (O.I.) - Anal. Chem. - (1958) 30, 210.

39 - SJOSTRAND -Anal. Chem. - (1964) - 36 ,814.

40 - SMITH (H.), FORSHUHVUD (S.) & WASSEN (A.) - Nature - (1962) - 194 , 725.

41 - VALLEE (B.L.) , ULMES (D.D.) & WACKER (W.E.C.) - Arch. Industr. Health - (1960) - 21 , 132.

TABLE des MATIERES

Introduction 1

1° PARTIE : METHODES de DOSAGE de l'ARSENIC 7

Chapitre 1 : Méthodes chimiques 9

A - Méthodes par précipitation 9

I - Dépôt d'arséniure de cuivre 9

II - Précipitation d'iodure d'arsenic 14

III - Réaction de DENIGES 15

IV - Dosage pondéral de CARNOT 15

V - Précipitation d'arsenic métalloïdique par réduction 15

VI - Formation de sulfure colloïdal 22

B - Méthodes d'isolement par voie sèche et volatilisation de l'arsenic 22

C - Méthodes diverses 24

D - Méthodes de séparation de l'arsenic par production d'hydrogène arsénié 26

I - Hydrogène arsénié détecté par dissociation thermique 27

a) - Méthode de MARSH chimique 27

b) - Méthode de MARSH électrolytique 40

II - Hydrogène arsénié détecté par action sur papiers réactifs 43

a) - Méthodes chimiques de production de l'hydrogène 43

1 - Réactif au nitrate d'argent 43

2 - Réactif au chlorure mercurique 44

3 - Réactif au citrate d'argent 56

b) Méthode électrolytique de production de l'hydrogène 56

Chapitre 2 : - Méthodes physiques..... 60

A - Méthodes basées sur la radioactivité provoquée 60

B - Polarographie 67

C - Fluorescence aux rayons X 70

2° PARTIE : DOSAGES de l'ARSENIC en PRESENCE de ^{74}As..... 72

Chapitre 1 : Dosage de l'arsenic par la méthode de MARSH en présence de 74 As 75

Chapitre 2 : Dosage de l'arsenic par la méthode de CRIBIER en présence de 74 As. 80

Chapitre 3 : Dosage de l'arsenic selon la méthode de CORDEBARD, en présence de 74 As.....110

3° PARTIE : QUELQUES QUESTIONS POSEES par le METABOLISME de l'ARSENIC 115

Chapitre 1 : L'arsenic normal 115

Chapitre 2 : Fixation arsenicale exogène 121

Chapitre 3 : Etude de la dynamique de l'arsenic au moyen de 74 As. 124

CONCLUSIONS 139

BIBLIOGRAPHIE